BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen:

103 44 057.7

Anmeldetag:

23. September 2003

Anmelder/Inhaber:

VERMICON AG,

80992 München/DE

Bezeichnung:

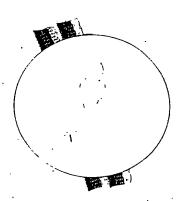
Verfahren zum spezifischen Schnellnachweis

getränkeschädlicher Mikroorganismen

IPC:

C 12 Q 1/68

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.



München, den 28. Oktober 2004

Deutsches Patent- und Markenamt

Der Präsident

Im Auftrag

BEST AVAILABLE COPY

Schäfer

MAIWALD PATENTANWALTS GMBH I

München · Hamburg · Düsseldorf New York

Patentanwälte

Dr. Walter Malwald (München)
Dr. Volker Hamm (Hamburg)
Dr. Stefan Michalski (Düsseldorf)
Dr. Regina Neuefeind (München)
Dipl.-Ing. Udo Preuss (München)
Dipl.-Ing, Korbinian Kopf, M.A.
(München)
Dr. Norbert Hansen (München)
Dipl.-Ing. Lutz Kietzmann LL.M. (Düsseldorf)
Dr. Martin Huenges (München)

Rechtsanwalt Stephan N. Schneller (München)

Dr. Holger Glas (München)

In Kooperation mit: Maiwald Inc., European IP Services, New York Dipl.-Ing. Korbinian Kopf, M.A. U.S. Patent Agent

Unser Zeichen V 7505 / RN München, 23. September 2003

VERMICON AG

Emmy-Noether-Straße 2 80992 München

Verfahren zum spezifischen Schnellnachweis getränkeschädlicher Mikroorganismen

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum spezifischen Schnellnachweis getränkeschädlicher Mikroorganismen durch in situ-Hybridisierung. Weiter betrifft die Erfindung spezifische Oligonukleotidsonden, die im Rahmen des Nachweisverfahrens eingesetzt werden sowie Kits, die diese Oligonukleotidsonden enthalten.

RN:LA:uh

Aktenzeichen

Neuanmeldung VERMICON AG

Unter dem Oberbegriff "Alkoholfreie Getränke" (AfG) werden Getränkegruppen wie Fruchtsäfte, Fruchtnektare, Fruchtkonzentrate, Fruchtpürees, Erfrischungsgetränke und Wässer zusammengefasst.

Generell können alkoholfreie Getränke aufgrund ihrer sehr vielseitigen Zusammensetzung aus Nähr- und Wuchsstoffen als potenziell gefährdet durch das Wachstum eines breiten Spektrums von Mikroorganismen eingestuft werden.

Nach heutigem Kenntnisstand werden hauptsächlich Hefen, Schimmelpilze,
Milchsäurebakterien, Essigsäurebakterien, Bazillen und Alicyclobazillen im AfG-Bereich
vorgefunden und somit als "getränkeschädliche Mikroorganismen" beschrieben.
Die Kontaminationen mit diesen Mikroorganismen führen in der Regel nicht zu
gesundheitlichen Schäden des Konsumenten, sie gehen aber meist mit Trübungen,
Geschmacks- und Geruchsveränderungen des Endprodukts einher und führen durch einen
daraus resultierenden Imageverlust zu hohen wirtschaftlichen Einbußen für die produzierende
Industrie.

In Fruchtsäften und Fruchtnektaren können sich aufgrund der meist natürlicherweise hohen Konzentration an Fruchtsäuren und einem damit verbundenen niedrigen pH-Wert (pH-Bereich 2,5 bis 4,5) i.d.R. nur acidophile oder acidotolerante Mikroorganismen (z.B. Milchsäurebakterien, Alicyclobazillen, säuretolerante Hefe- und Schimmelpilzarten) vermehren und somit zu einer Schädigung dieser Getränke führen.

Eine Maßnahme zur Einschränkung des Verderbs durch Mikroorganismen stellt die Carbonisierung von Getränken dar. Dieses Verfahren wird sehr häufig bei der Herstellung von Erfrischungsgetränken eingesetzt. Durch die Zugabe von CO₂ wird im Produkt ein nahezu anaerobes Milieu geschaffen und nur mikroaerophile, fakultativ anaerobe und

anaerobe Mikroorganismen (z.B. Milchsäurebakterien, Essigsäurebakterien und Hefen) sind in der Lage, dieses Milieu zu tolerieren.

Stille Getränke werden in den meisten Fällen einem Pasteurisierungsprozess unterzogen, um eine lange Stabilität und Qualität dieser Produkte zu gewährleisten. Durch die Pasteurisierung sollen möglichst umfassend alle vegetativen Mikroorganismen abgetötet werden. Allerdings findet dadurch keine Eliminierung der durch Bazillen und Alicyclobazillen gebildeten Sporen statt. Zudem sind auch einige Schimmelpilzarten in der Lage, diesen Prozess ohne Schaden zu überstehen und nachfolgend Produktschäden hervorzurufen.

Ein entscheidender Faktor in der Gewährleistung der biologischen Qualität von Getränken ist die Fahndung nach der Ursache der Kontamination, um diese endgültig zu beseitigen.

Im Allgemeinen werden dabei zwei Kontaminationswege unterschieden: Als Primärkontamination werden Kontaminationen bezeichnet, bei denen Mikroorganismen durch die Rohstoffe oder durch Verunreinigungen im Prozess in das Produkt eingetragen werden. Sekundärkontaminationen sind Kontaminationen, die nach der eigentlichen Produktion des Getränks im Abfüllbereich auftreten.

Die Herausforderung, die sich durch diese verschiedenen Faktoren an die mikrobiologische Qualitätskontrolle stellt, besteht darin, umfassend und schnell alle im Produkt vorhandenen Keime zu identifizieren, um möglichst rasch entsprechende Gegenmaßnahmen einleiten zu können.

Bislang erfolgt der konventionelle Nachweis von AfG-Schädlingen durch mehrtägige Anreicherung der Untersuchungsprobe in einem Selektivmedium und anschließende Lichtmikroskopie. Zudem müssen zur genauen Bestimmung des AfG-Verderbers weitere physiologische Tests (wie Gram-Färbung, Zuckerverwertungsreihen) durchgeführt werden.

Die Nachteile dieser ausschließlich kultivierungsabhängigen Methode liegen in der langen Analysedauer, welche erhebliche logistische Kosten in den getränkeproduzierenden Betrieben verursacht. Darüber hinaus droht nach der Auslieferung von Produkten, deren mikrobiologischer Befund noch nicht einwandfrei feststand ein beträchtlicher Imageverlust für das betreffende Unternehmen, wenn im Fall von Kontaminationen Rückholaktionen von verdorbenen Produktchargen nötig werden.

Im Folgenden werden die getränkeschädlichen Mikroorganismen und deren Nachweis, wie er im Stand der Technik erfolgt, im Detail beschrieben.

Hefen und Schimmelpilze:

Zu denjenigen Mikroorganismen, die eine Hitzebehandlung überleben und anschließend Probleme in den Getränken verursachen können, zählen vor allem die Schimmelpilze Byssochlamys fulva und B. nivea, Neosartorya fischeri und Talaromyces flavus sowie einige Hefen. In carbonisierten Getränken sind die säuretoleranten, fermentativen Vertreter der Hefen (Saccharomyces spp., Dekkera spp. und Zygosaccharomyces bailii) vorherrschend. Neben der Beeinträchtigung der Produkte durch Geschmacksveränderungen und Trübung geht von diesen "gärfähigen Hefen" eine potenzielle Gefahr durch fallweise Explosion ("Bombagen") der Abfüllbehältnisse aus.

Der Nachweis von Hefen und Schimmelpilzen im AfG-Bereich erfolgt derzeit über die Kultivierung auf entsprechenden Nährmedien (z.B. SSL-Bouillon, OFS-Medium, Malzextrakt-Medium, Würze-Agar) und dauert zwischen 2 und 7 Tagen. Ein Nachweis auf Gattungs- oder gar Artebene ist sehr zeitaufwendig und wird in der Regel nicht durchgeführt.

Milchsäurebakterien:

Die Vertreter der Milchsäurebakterien sind gram-positive, nicht sporenbildende, Katalasenegative Stäbchen oder Kokken, die sich durch einen sehr hohen Nährstoffanspruch (vor

allem an Vitaminen, Aminosäuren, Purinen und Pyrimidinen) auszeichnen. Wie der Name schon andeutet, sind alle Milchsäurebakterien in der Lage, als Gärprodukt Milchsäure herzustellen.

Aufgrund ihres anaeroben Wachstums und der für anaerobe Mikroorganismen atypische hohe Toleranz und Unempfindlichkeit gegenüber Sauerstoff werden sie als aerotolerante Anaerobier bezeichnet.

Bis dato werden u.a. die Gattungen Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Oenococcus Carnobacterium, Bifidobacterium, Enterococcus, Pediococcus, Weissella und Streptococcus unter dem Begriff "Milchsäurebakterien" geführt.

Milchsäurebakterien haben in der Lebensmittelindustrie eine ambivalente Rolle. Einerseits ist ihr Vorhandensein in manchen Prozessen, wie z.B. der Herstellung von Sauerkraut, erwünscht und somit nicht wegzudenken. Andererseits kann ihr Vorkommen in Bier oder Fruchtsäften zu einem Verderb dieser Produkte führen. Das Wachstum dieser Bakterien äußert sich vornehmlich durch Trübung, Säuerung, Gas- und Schleimbildung.

In der AfG-Industrie sind hauptsächlich die Bakteriengattungen Leuconostoc, Lactococcus, Lactobacillus, Oenococcus, Weissella und Pediococcus als Kontaminanten von Bedeutung. Milchsäurebakterien werden durch 5- bis 7-tägige Inkubation bei 25 °C auf MRS-Agar (pH 5,7) nachgewiesen.

Essigsäurebakterien:

Mit dem Trivialnamen "Essigsäurebakterien" werden Bakterien der Gattungen Acetobacter, Gluconobacter, Gluconoacetobacter und Acidomonas bezeichnet. Bakterien dieser Gattungen sind gram-negative, obligat aerobe, Oxidase-negative Stäbchen, deren optimale Vermehrungstemperatur um 30 °C liegt. Essigsäurebakterien sind in der Lage, sich auch bei

pH-Werten um 2,2 bis 3,0 zu vermehren und können daher in Getränken mit diesem pH-Wert Produktschäden hervorrufen.

Phylogenetisch werden Bakterien dieser Gattung als Mitglieder der Alphaproteobakterien eingestuft.

Die Produktschädigungen gehen zumeist mit Trübungen und Geschmacksveränderungen durch die Bildung von Essigsäure und Gluconsäure einher.

Für den Nachweis von Essigsäurebakterien haben sich vor allem ACM-Agar (Inkubationszeit: 14 Tage) und DSM-Agar (Inkubationszeit: 3 bis 5 Tage) bewährt.

Bazillen:

Bazillen sind gram-positive aerobe, z.T. fakultativ anaerobe, zumeist Katalase-positive sporenbildende Stäbchen. In der AfG-Industrie wurde bis dato hauptsächlich *Bacillus coagulans* als Verderbniserreger identifiziert.

Der Nachweis erfolgt durch Ausstrich des Untersuchungsmaterials auf Dextrose-Caseinpepton-Agar oder Hefeextrakt-Pepton-Dextrose-Stärke-Agar und anschließender Inkubation bei 55 °C (Inkubationszeit: 3 Tage). Um eine Aktivierung bzw. eine Auskeimung der *B. coagulans*-Sporen zu erreichen, wird vor der eigentlichen Inkubation eine Erwärmung der Probe bei 80 °C für 10 min empfohlen.

Alicyclobazillen:

Alicyclobazillen sind gram-positive, aerobe, thermophile und Katalase-positive sporenbildende Stäbchen. Vertreter dieser Gattung bilden ω -alicyclische Fettsäuren als zelluläre Hauptfettsäuren.

In der AfG-Industrie wurde bis dato weltweit hauptsächlich Alicyclobacillus acidoterrestris als Verderbniserreger nachgewiesen. In seltenen Fällen wurden auch A. acidocaldarius und A. acidophilus in verdorbenen Getränken identifiziert.

Der optimale Wachstumstemperaturbereich für *Alicyclobacillus spp.* liegt zwischen 26 und 55 °C. Der pH-Bereich, in dem sich Bakterien dieser Gattung vermehren können, liegt zwischen 2,2 und 5,8.

Das Wachstum von A. acidoterrestris führt in Fruchtsäften zu Verderb, der sich infolge der Bildung von Guajakol und Di-Bromphenol in Geruchs- und Geschmacksveränderungen äußert. Eine Kontamination mit diesem Organismus verläuft zumeist inapparent, was bedeutet, dass nur in seltenen Fällen eine Trübung in den infizierten Getränken auftritt. Alicyclobazillen können über mehrtägige Kultivierung bei 44 bis 46 °C auf Orangenserum-Agar, Kartoffel-Dextrose-Agar, K-Agar, YSG-Agar oder BAM-Agar nachgewiesen werden. Zudem ist zur sicheren Bestätigung des Befundes eine Reihe physiologischer Tests notwendig. Um eine Aktivierung bzw. eine Auskeimung der Alicyclobacillus ssp.-Sporen zu erreichen, wird vor der eigentlichen Inkubation eine Erwärmung der Probe bei 80 °C für 10 min empfohlen.

Die bisher in der Routineanalytik eingesetzten Nachweisverfahren für getränkeschädliche Mikroorganismen sind sehr langwierig und teilweise zu ungenau und verhindern somit schnelle und wirkungsvolle Gegenmaßnahmen zum Erhalt des kontaminierten Produktes. Die Ungenauigkeit resultiert beim Nachweis aus einer fehlenden Differenzierung bis auf Gattungs- und/oder Artebene.

Als logische Konsequenz aus den Schwierigkeiten, welche bei traditionellen Kultivierungsverfahren beim Nachweis von getränkeschädlichen Mikroorganismen auftreten,

bieten sich daher Nachweisverfahren auf Nukleinsäurebasis zur schnellen, sicheren und spezifischen Identifizierung von Verderbniserregern in alkoholfreien Gertränken an.

Bei der PCR, der Polymerase-Kettenreaktion, wird mit spezifischen Primern ein charakteristisches Stück des jeweiligen Mikroorganismengenoms amplifiziert. Findet der Primer seine Zielstelle, so kommt es zu einer millionenfachen Vermehrung eines Stücks der Erbsubstanz. Bei der anschließenden Analyse, z.B. mittels eines DNA-Fragmente auftrennenden Agarose-Gels, kann eine qualitative Bewertung stattfinden. Im einfachsten Fall führt dies zu der Aussage, dass die Zielstellen für die verwendeten Primer in der untersuchten Probe vorhanden waren. Weitere Aussagen sind nicht möglich; diese Zielstellen können sowohl von einem lebenden Bakterium, als auch von einem toten Bakterium oder von nackter DNA stammen. Da die PCR-Reaktion auch bei Anwesenheit eines toten Bakteriums oder nackter DNA positiv ausfällt, kommt es hier häufig zu falsch positiven Ergebnissen. Eine Weiterführung dieser Technik stellt die quantitative PCR dar, bei der versucht wird, eine Korrelation zwischen der Menge an vorhandenen Mikroorganismen und der Menge an amplifizierter DNA herzustellen. Vorteile der PCR liegen in ihrer hohen Spezifität, leichten Anwendbarkeit und im geringen Zeitaufwand. Wesentliche Nachteile sind ihre hohe Anfälligkeit für Kontaminationen und damit falsch positive Ergebnisse sowie die bereits erwähnte fehlende Möglichkeit, zwischen lebenden und toten Zellen bzw. nackter DNA zu unterscheiden.

Einen einzigartigen Ansatz, die Spezifität der molekularbiologischen Methoden wie der PCR mit der Möglichkeit der Mikroorganismenvisualisierung, wie sie die Antikörper-Methoden ermöglichen, zu verbinden, bietet die Methode der Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung (FIŞH; Amann, R. I., W. Ludwig und K.-H. Schleifer, 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. Microbial. Rev. 59, S. 143-169). Hierbei können Mikroorganismenarten, -gattungen oder -gruppen hochspezifisch identifiziert und visualisiert werden.

Die FISH-Technik basiert auf der Tatsache, dass es in Mikroorganismenzellen bestimmte Moleküle gibt, die aufgrund ihrer lebenswichtigen Funktion im Laufe der Evolution nur wenig mutiert sind: Die 16S, 18S, 23S und 26S ribosomale Ribonukleinsäure (rRNA). Sie sind Bestandteile der Ribosomen, den Orten der Proteinbiosynthese, und können aufgrund ihrer ubiquitären Verbreitung, ihrer Größe, und ihrer strukturellen und funktionellen Konstanz als spezifische Marker dienen (Woese, C. R., 1987. Bacterial evolution. Microbiol. Rev. 51, S. 221-271). Ausgehend von einer vergleichenden Sequenzanalyse können phylogenetische Beziehungen allein aufgrund dieser Daten aufgestellt werden. Dazu müssen diese Sequenzdaten in ein Alignment gebracht werden. Im Alignment, welches sich auf Kenntnisse über die Sekundärstruktur und Tertiärstruktur dieser Makromoleküle stützt, werden die homologen Positionen der ribosomalen Nukleinsäuren in Einklang miteinander gebracht.

Ausgehend von diesen Daten können phylogenetische Berechnungen durchgeführt werden. Der Einsatz modernster Computertechnologie macht es möglich, auch großangelegte Berechnungen schnell und effektiv auszuführen, sowie große Datenbanken, welche die Alignment-Sequenzen der 16S, 18S, 23S und 26S rRNA beinhalten, anzulegen. Durch den schnellen Zugriff auf dieses Datenmaterial können neu erhaltene Sequenzen in kurzer Zeit phylogenetisch analysiert werden. Diese rRNA Datenbanken können dazu verwendet werden, art- und gattungsspezifische Gensonden zu konstruieren. Hierbei werden alle verfügbaren rRNA Sequenzen miteinander verglichen und für bestimmte Sequenzstellen Sonden entworfen, die spezifisch eine Mikroorganismenart, -gattung oder -gruppe erfassen.

Bei der FISH (Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung)-Technik werden diese Gensonden, die zu einer bestimmten Region auf der ribosomalen Zielsequenz komplementär sind, in die Zelle eingeschleust. Die Gensonden sind i.d.R. kleine, 16 bis 20 Basen lange, einzelsträngige Desoxyribonukleinsäurestücke und richten sich gegen eine Zielregion, welche typisch für eine Mikroorganismenart oder eine Mikroorganismengruppe ist. Findet die fluoreszenzmarkierte

Gensonde in einer Mikroorganismenzelle ihre Zielsequenz, so bindet sie daran und die Zellen können aufgrund ihrer Fluoreszenz mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops detektiert werden.

Die FISH-Analyse wird grundsätzlich auf einem Objektträger durchgeführt, da die Mikroorganismen bei der Auswertung durch Bestrahlung mit einem hochenergetischen Licht visualisiert, also sichtbar gemacht werden. Hierin liegt allerdings einer der Nachteile der klassischen FISH-Analyse: da auf einem Objektträger naturgemäß nur relativ kleine Volumina analysiert werden können, ist die Sensitivität der Methode unbefriedigend und für eine verlässliche Analyse nicht ausreichend.

Mit der vorliegenden Erfindung werden daher die Vorteile der klassischen FISH-Analyse mit denen der Kultivierung verknüpft. Durch einen vergleichsweise kurzen Kultivierungsschritt wird sichergestellt, dass die nachzuweisenden Mikroorganismen in ausreichender Zahl vorliegen, bevor der Nachweis der Mikroorganismen mittels spezifischer FISH durchgeführt wird.

Die Durchführung der in der vorliegenden Anmeldung beschriebenen Verfahren zum spezifischen Nachweis von getränkeschädlichen Hefen der Gattungen Zygosaccharomyces, Hanseniaspora, Candida, Saccharomyces und Saccharomycodes, insbesondere der Spezies Zygosaccharomyces bailii, Z. mellis, Z. rouxii, Z. bisporus, Hanseniaspora uvarum, Candida intermedia, Saccharomyces exiguus, Saccharomycodes ludwigii oder zum spezifischen Nachweis von getränkeschädlichen Schimmelpilzen der Gattungen Mucor, Byssochlamys, Neosartorya, Aspergillus und Talaromyces, insbesondere der Spezies Mucor racemosus, Byssochlamys nivea, Neosartorya fischeri, Aspergillus fumigati und A. fischeri, Talaromyces flavus, T. bacillisporus und T. flavus oder zum spezifischen Nachweis von getränkeschädlichen Bakterien der Gattungen Lactobacillus, Leuconostoc, Oenococcus, Weissella, Lactococcus, Acetobacter, Gluconobacter, Gluconoacetobacter, Bacillus und Alicyclobacillus, insbesondere der Spezies Lactobacillus collinoides, Leuconostoc

mesenteroides, L. pseudomesenteroides, Oenococcus oenos, Bacillus coagulans, Alicyclobacillus ssp., A. acidoterrestris, A. cycloheptanicus und A. herbarius umfasst somit die folgenden Schritte:

- Kultivieren der in der untersuchten Probe enthaltenen getränkeschädlichen Mikroorganismen
- Fixieren der in der Probe enthaltenen getränkeschädlichen Mikroorganismen
- Inkubieren der fixierten Mikroorganismen mit mindestens einer Oligonukleotidsonde, ggf. zusammen mit einer Kompetitorsonde, um eine Hybridisierung herbeizuführen,
- Entfernen bzw. Abwaschen der nicht hybridisierten Oligonukleotidsonden und
- Detektieren der mit den Oligonukleotidsonden hybridisierten getränkeschädlichen Mikroorganismen.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wird unter "Kultivieren" die Vermehrung der in der Probe enthaltenen Mikroorganismen in einem geeigneten Kultivierungsmedium verstanden. Zum Nachweis von Hefen und Schimmelpilzen kann die Kultivierung z.B. in SSL-Bouillon für 24 h bei 25 °C erfolgen. Zum Nachweis von Milchsäurebakterien kann die Kultivierung z.B. in MRS-Bouillon für 48 h bei 30 °C erfolgen. Zum Nachweis von Essigsäurebakterien kann die Kultivierung z.B. auf DSM-Agar für 48 h bei 28 °C erfolgen. Zum Nachweis von Bazillen, vornehmlich *B. coagulans*, kann die Kultivierung z.B. auf Dextrose-Caseinpepton-Agar für 48 h bei 55 °C erfolgen.

Zum Nachweis von Alicyclobazillen kann die Kultivierung z.B. in BAM-Bouillon für 48 h bei 44 °C erfolgen.

Der Fachmann kann die geeigneten Kultivierungsverfahren für jeden zu untersuchenden Mikroorganismus bzw. jede Mikroorganismengruppe dem Stand der Technik entnehmen.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wird unter "Fixieren" der Mikroorganismen eine Behandlung verstanden, mit der die Hülle der Mikroorganismen für Nukleinsäuresonden durchlässig gemacht wird. Zur Fixierung wird üblicherweise Ethanol verwendet. Kann die

Zellwand trotz dieser Behandlung nicht von den Nukleinsäuresonden penetriert werden, so sind dem Fachmann ausreichend weitere Maßnahmen bekannt, die zu demselben Ergebnis führen. Dazu zählen beispielsweise der Einsatz von Methanol, Mischungen von Alkoholen, einer niederprozentigen Paraformaldehydlösung oder einer verdünnten Formaldehydlösung, enzymatische Behandlungen oder ähnliches. Es kann sich in einer besonders bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens ein enzymatischer Schritt zum vollständigen Aufschluss der Mikroorganismen anschließen. Als Enzyme sind hier bspw. Lysozym, Proteinase K und Mutanolysin zu nennen. Dem Fachmann sind hier genügend geeignete Verfahren bekannt, und er wird auf einfache Weise feststellen können, welches Mittel für den Zellaufschluss eines bestimmten Mikroorganismus besonders geeignet ist.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung werden für die "Hybridisierung" die fixierten Mikroorganismen mit fluoreszenzmarkierten Oligonukleotidsonden inkubiert. Diese Oligonukleotidsonden können nach dem Fixieren die Zellhülle penetrieren und an die der Oligonukleotidsonde entsprechende Zielsequenz im Zellinneren binden. Die Bindung ist als Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen komplementären Nukleinsäurestücken zu verstehen.

Die Oligonukleotidsonde kann dabei komplementär zu einer chromosomalen oder episomalen DNA sein, aber auch zu einer mRNA oder rRNA des nachzuweisenden Mikroorganismus. Von Vorteil ist es, eine Oligonukleotidsonde zu wählen, die zu einem Bereich komplementär ist, der in einer Kopienzahl von mehr als 1 im nachzuweisenden Mikroorganismus vorhanden ist. Die nachzuweisende Sequenz liegt bevorzugt 500 bis 100.000 mal pro Zelle vor, besonders bevorzugt 1.000 bis 50.000 mal. Aus diesem Grunde wird bevorzugt eine Sequenz aus der rRNA als Zielsequenz verwendet, da die Ribosomen in der Zelle als Orte der Proteinbiosynthese viele tausendmal in jeder aktiven Zelle vorliegen.

Bei der Nukleinsäuresonde im Sinne der Erfindung kann es sich um eine DNA- oder RNASonde handeln, die in der Regel zwischen 12 und 100 Nukleotide umfassen wird, bevorzugt
zwischen 15 und 50, besonders bevorzugt zwischen 17 und 25 Nukleotide. Die Auswahl der
Nukleinsäuresonden geschieht unter dem Gesichtspunkt, ob eine komplementäre Sequenz in
dem nachzuweisenden Mikroorganismus vorliegt. Durch diese Auswahl einer definierten
Sequenz kann eine Mikroorganismenart, eine Mikroorganismengattung oder eine ganze
Mikroorganismengruppe erfasst werden. Komplementarität sollte bei einer Sonde von 15
Nukleotiden über 100 % der Sequenz gegeben sein. Bei Oligonukleotiden mit mehr als 15
Nukleotiden sind je nach Länge ein bis mehrere Fehlpaarungsstellen erlaubt.

Zur Erhöhung der Spezifität von Nukleinsäuresonden können Kompetitorsonden eingesetzt werden. Unter dem Begriff "Kompetitorsonden" werden im Rahmen der vorliegenden Erfindung insbesondere Oligonukleotide verstanden, die eventuell auftretende ungewollte Bindungen der Nukleinsäuresonden abdecken und dabei eine höhere Sequenzähnlichkeit zu nicht nachzuweisenden Mikroorganismengattungen bzw. -spezies aufweisen als zu den nachzuweisenden Mikroorganismengattungen bzw. -spezies. Durch den Einsatz von Kompetitorsonden kann verhindert werden, dass die Nukleinsäuresonde an die Nukleinsäuresequenz der nicht nachzuweisenden Mikroorganismengattungen bzw. -spezies bindet und zu falschen Signalen führt. Die unmarkierte Kompetitorsonde wird immer zusammen mit der entsprechenden markierten Oligonukleotidsonde eingesetzt.

Die Kompetitorsonde sollte komplementär sein zu einer Nukleinsäuresequenz mit hoher Sequenzähnlichkeit zur Nukleinsäuresequenz der nachzuweisenden Mikroorganismengattungen bzw. -spezies. Besonders bevorzugt ist die Kompetitorsonde komplementär zur rRNA von nicht nachzuweisenden Mikroorganismengattungen bzw. -spezies.

Bei der Kompetitorsonde kann es sich im Sinne der Erfindung um eine DNA- oder RNA-Sequenz handeln, die in der Regel zwischen 12 und 100 Nukleotide umfassen wird, bevorzugt zwischen 15 und 50, besonders bevorzugt zwischen 17 und 25 Nukleotide. Durch die Auswahl einer definierten Sequenz kann die Hybridisierung der markierten Oligonukleotidsonde an die Nukleinsäuresequenz einer Bakterienart, einer Bakteriengattung oder einer ganzen Bakteriengruppe abgeblockt werden. Komplementarität zu der abzublockenden Nukleinsäuresequenz sollte bei einer Sonde von 15 Nukleotiden über 100 % der Sequenz gegeben sein. Bei Oligonukleotiden mit mehr als 15 Nukleotiden sind je nach Länge ein bis mehrere Fehlpaarungsstellen erlaubt.

Im Rahmen der erfindungsgemäßen Verfahren haben die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresondenmoleküle die nachstehend angegebenen Längen und Sequenzen (alle Nukleinsäuresondenmoleküle sind in 5'-3'-Richtung notiert).

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresondenmoleküle sind zum spezifischen Nachweis von getränkeschädlichen Hefen der Gattungen Zygosaccharomyces, Hanseniaspora, Candida, Saccharomyces und Saccharomycodes, insbesondere der Spezies Zygosaccharomyces bailii, Z. mellis, Z. rouxii, Z. bisporus, Hanseniaspora uvarum, Candida intermedia, Saccharomyces exiguus, Saccharomycodes ludwigii oder zum spezifischen Nachweis von getränkeschädlichen Schimmelpilzen der Gattungen Mucor, Byssochlamys, Neosartorya, Aspergillus und Talaromyces, insbesondere der Spezies Mucor racemosus, Byssochlamys nivea, Neosartorya fischeri, Aspergillus fumigatu und A. fischeri, Talaromyces flavus, T. bacillisporus und T. flavus oder zum spezifischen Nachweis von getränkeschädlichen Bakterien der Gattungen Lactobacillus, Leuconostoc, Oenococcus, Weissella, Lactococcus, Acetobacter, Gluconobacter, Gluconoacetobacter, Bacillus und Alicyclobacillus, insbesondere der Spezies Lactobacillus collinoides, Leuconostoc mesenteroides, L. pseudomesenteroides, Oenococcus oenos, Bacillus coagulans, Alicyclobacillus ssp., A. acidoterrestris, A. cycloheptanicus und A. herbarius geeignet und werden dementsprechend in dem erfindungsgemäßen Nachweisverfahren eingesetzt.

a) Nukleinsäuresondenmoleküle, die spezifisch getränkeschädliche Hefen nachweisen:

SEQ ID No. 1: 5'- CCCGGTCGAATTAAAACC SEQ ID No. 2: 5'- GCCCGGTCGAATTAAAAC SEQ ID No. 3: 5'- GGCCCGGTCGAATTAAAA SEQ ID No. 4: 5'- AGGCCCGGTCGAATTAAA 5'- AAGGCCCGGTCGAATTAA SEQ ID No. 5: SEQ ID No. 6: 5'- ATATTCGAGCGAAACGCC 5'- AAAGATCCGGACCGGCCG SEQ ID No. 7: 5'- GGAAAGATCCGGACCGGC SEQ ID No. 8: SEQ ID No. 9: 5'- GAAAGATCCGGACCGGCC SEQ ID No. 10: 5'- GATCCGGACCGGCCGACC SEQ ID No. 11: 5'- AGATCCGGACCGGCCGAC 5'- AAGATCCGGACCGGCCGA SEQ ID No. 12: SEQ ID No. 13: 5'- GAAAGGCCCGGTCGAATT 5'- AAAGGCCCGGTCGAATTA SEQ ID No. 14: SEQ ID No. 15: 5'- GGAAAGGCCCGGTCGAAT SEQ ID No. 16: 5'- AGGAAAGGCCCGGTCGAA SEQ ID No. 17: 5'- AAGGAAAGGCCCGGTCGA

Die Sequenzen SEQ ID No. 1 bis SEQ ID No. 17 sind vor allem zum Nachweis von Zygosaccharomyces bailii geeignet.

SEQ ID No. 18: 5'- GGAAGAAAACCAGTACGC
SEQ ID No. 19: 5'- CCGGTCGGAAGAAAACCA
SEQ ID No. 20: 5'- GAAGAAAACCAGTACGCG
SEQ ID No. 21: 5'- CCCGGTCGGAAGAAAACC
SEQ ID No. 22: 5'- CGGTCGGAAGAAAACCAG

SEQ ID No. 23: 5'- GGTCGGAAGAAACCAGT 5'- AAGAAAACCAGTACGCGG SEQ ID No. 24: SEQ ID No. 25: 5'- GTACGCGGAAAAATCCGG SEQ ID No. 26: 5'- AGTACGCGGAAAAATCCG SEQ ID No. 27: 5'- GCGGAAAAATCCGGACCG SEQ ID No. 28: 5'- CGGAAGAAAACCAGTACG SEQ ID No. 29: 5'- GCCCGGTCGGAAGAAAC 5'- CGCGGAAAAATCCGGACC SEQ ID No. 30: SEQ ID No. 31: 5'- CAGTACGCGGAAAAATCC SEQ ID No. 32: 5'- AGAAAACCAGTACGCGGA SEQ ID No. 33: 5'- GGCCCGGTCGGAAGAAA SEQ ID No. 34: 5'- ATAAACACCACCCGATCC SEQ ID No. 35: 5'- ACGCGGAAAAATCCGGAC 5'- GAGAGGCCCGGTCGGAAG SEQ ID No. 36: SEQ ID No. 37: 5'- AGAGGCCCGGTCGGAAGA SEQ ID No. 38: 5'- GAGGCCCGGTCGGAAGAA SEQ ID No. 39: 5'- AGGCCCGGTCGGAAGAAA SEQ ID No. 40: 5'- CCGAGTGGGTCAGTAAAT SEQ ID No. 41: 5'- CCAGTACGCGGAAAAATC SEQ ID No. 42: 5'- TAAACACCACCCGATCCC 5'- GGAGAGGCCCGGTCGGAA SEQ ID No. 43: SEQ ID No. 44: 5'- GAAAACCAGTACGCGGAA SEQ ID No. 45: 5'- TACGCGGAAAAATCCGGA SEQ ID No. 46: 5'- GGCCACAGGGACCCAGGG SEQ ID No. 47: 5'- TCACCAAGGGCCACAGGG SEQ ID No. 48: 5'- GGGCCACAGGGACCCAGG SEQ ID No. 49: 5'- TTCACCAAGGGCCACAGG SEQ ID No. 50: 5'- ACAGGGACCCAGGGCTAG

SEQ ID No. 51:	5'- AGGGCCACAGGGACCCAG
SEQ ID No. 52:	5'- GTTCACCAAGGGCCACAG
SEQ ID No. 53:	5'- GCCACAGGGACCCAGGGC
SEQ ID No. 54:	5'- CAGGGACCCAGGGCTAGC
SEQ ID No. 55:	5'- AGGGACCCAGGGCTAGCC
SEQ ID No. 56:	5'- ACCAAGGGCCACAGGGAC
SEQ ID No. 57:	5'- CCACAGGGACCCAGGGCT
SEQ ID No. 58:	5'- CACAGGGACCCAGGGCTA
SEQ ID No. 59:	5'- CACCAAGGGCCACAGGGA
SEQ ID No. 60:	5'- GGGACCCAGGGCTAGCCA
SEQ ID No. 61:	5'- AGGAGAGGCCCGGTCGGA
SEQ ID No. 62:	5'- AAGGAGAGGCCCGGTCGG
SEQ ID No. 63:	5'- GAAGGAGAGGCCCGGTCG
SEQ ID No. 64:	5'- AGGGCTAGCCAGAAGGAG
SEQ ID No. 65:	5'- GGGCTAGCCAGAAGGAGA
SEQ ID No. 66:	5'- AGAAGGAGAGGCCCGGTC
SEQ ID No. 67:	5'- CAAGGGCCACAGGGACCC
SEQ ID No. 68:	5'- CCAAGGGCCACAGGGACC

Die Sequenzen SEQ ID No. 18 bis SEQ ID No. 68 sind vor allem zum Nachweis von Zygosaccharomyces mellis geeignet.

SEQ ID No. 69: 5'- GTCGGAAAAACCAGTACG
SEQ ID No. 70: 5'- GCCCGGTCGGAAAAACCA
SEQ ID No. 71: 5'- CCGGTCGGAAAAACCAGT
SEQ ID No. 72: 5'- CCCGGTCGGAAAAACCAG
SEQ ID No. 73: 5'- TCGGAAAAACCAGTACGC
SEQ ID No. 74: 5'- CGGAAAAACCAGTACGC

SEQ ID No. 75: 5'- GGAAAAACCAGTACGCGG SEQ ID No. 76: 5'- GTACGCGGAAAAATCCGG SEQ ID No. 77: 5'- AGTACGCGGAAAAATCCG **SEQ ID No. 78:** 5'- GCGGAAAAATCCGGACCG 5'- GGTCGGAAAAACCAGTAC SEQ ID No. 79: SEQ ID No. 80: 5'- ACTCCTAGTGGTGCCCTT SEQ ID No. 81: 5'- GCTCCACTCCTAGTGGTG SEQ ID No. 82: 5'- CACTCCTAGTGGTGCCCT 5'- CTCCACTCCTAGTGGTGC SEQ ID No. 83: 5'- TCCACTCCTAGTGGTGCC SEQ ID No. 84: 5'- CCACTCCTAGTGGTGCCC SEQ ID No. 85: SEQ ID No. 86: 5'- GGCTCCACTCCTAGTGGT SEQ ID No. 87: 5'- AGGCTCCACTCCTAGTGG 5'- GGCCCGGTCGGAAAAACC SEQ ID No. 88: 5'- GAAAAACCAGTACGCGGA SEQ ID No. 89: SEQ ID No. 90: 5'- CGCGGAAAAATCCGGACC SEQ ID No. 91: 5'- CAGTACGCGGAAAAATCC SEQ ID No. 92: 5'- CGGTCGGAAAAACCAGTA SEQ ID No. 93: 5'- AAGGCCCGGTCGGAAAAA 5'- CAGGCTCCACTCCTAGTG SEQ ID No. 94: SEQ ID No. 95: 5'- CTCCTAGTGGTGCCCTTC SEQ ID No. 96: 5'- TCCTAGTGGTGCCCTTCC SEQ ID No. 97: 5'- GCAGGCTCCACTCCTAGT SEQ ID No. 98: 5'- AGGCCCGGTCGGAAAAAC SEQ ID No. 99: 5'- ACGCGGAAAAATCCGGAC SEQ ID No. 100: 5'- CCAGTACGCGGAAAAATC 5'- CTAGTGGTGCCCTTCCGT SEQ ID No. 101: 5'- GAAAGGCCCGGTCGGAAA SEQ ID No. 102:

5'- AAAGGCCCGGTCGGAAAA SEQ ID No. 103: SEQ ID No. 104: 5'- TACGCGGAAAAATCCGGA 5'- GGAAAGGCCCGGTCGGAA SEQ ID No. 105: SEQ ID No. 106: 5'- ATCTCTTCCGAAAGGTCG SEQ ID No. 107: 5'- CATCTCTTCCGAAAGGTC SEQ ID No. 108: 5'- CTCTTCCGAAAGGTCGAG SEQ ID No. 109: 5'- CTTCCGAAAGGTCGAGAT SEQ ID No. 110: 5'- TCTCTTCCGAAAGGTCGA 5'- TCTTCCGAAAGGTCGAGA SEQ ID No. 111: SEQ ID No. 112: 5'- CCTAGTGGTGCCCTTCCG SEQ ID No. 113: 5'- TAGTGGTGCCCTTCCGTC SEQ ID No. 114: 5'- AGTGGTGCCCTTCCGTCA SEQ ID No. 115: 5'- GCCAAGGTTAGACTCGTT SEQ ID No. 116: 5'- GGCCAAGGTTAGACTCGT 5'- CCAAGGTTAGACTCGTTG SEQ ID No. 117: 5'- CAAGGTTAGACTCGTTGG SEQ ID No. 118: 5'- AAGGTTAGACTCGTTGGC SEQ ID No. 119:

Die Sequenzen SEQ ID No. 69 bis SEQ ID No. 119 sind vor allem zum Nachweis von Zygosaccharomyces rouxii geeignet.

SEQ ID No. 120: 5'- GGCCCGGTCGAAATTAAA
SEQ ID No. 121: 5'- AGGCCCGGTCGAAATTAA
SEQ ID No. 122: 5'- AAGGCCCGGTCGAAATTA
SEQ ID No. 123: 5'- AAAGGCCCGGTCGAAATT
SEQ ID No. 124: 5'- GAAAGGCCCGGTCGAAAT
SEQ ID No. 125: 5'- ATATTCGAGCGAAACGCC
SEQ ID No. 126: 5'- GGAAAGGCCCGGTCGAAA

SEQ ID No. 127: 5'- AAAGATCCGGACCGGCCG

SEQ ID No. 128: 5'- GGAAAGATCCGGACCGGC

SEQ ID No. 129: 5'- GAAAGATCCGGACCGGCC

SEQ ID No. 130: 5'- GATCCGGACCGGCCGACC

SEQ ID No. 131: 5'- AGATCCGGACCGGCCGAC

SEQ ID No. 132: 5'- AAGATCCGGACCGGCCGA

SEQ ID No. 133: 5'- AGGAAAGGCCCGGTCGAA

SEQ ID No. 134: 5'- AAGGAAAGGCCCGGTCGA

Die Sequenzen SEQ ID No. 120 bis SEQ ID No. 134 sind vor allem zum Nachweis von Zygosaccharomyces bisporus geeignet.

SEQ ID No. 135: 5'-CGAGCAAAACGCCTGCTTTG

SEQ ID No. 136: 5'-CGCTCTGAAAGAGAGTTGCC

Die Sequenzen SEQ ID No. 135 und SEQ ID No. 136 sind vor allem zum Nachweis von Hanseniaspora uvarum geeignet.

SEQ ID No. 137: 5'-AGTTGCCCCCTACACTAGAC

Die Sequenz SEQ ID No. 137 ist vor allem zum Nachweis von Candida intermedia geeignet.

SEQ ID No. 138: 5'-AGTTGCCCCCTCTAAGC

Die Sequenz SEQ ID No. 138 ist vor allem zum Nachweis von Saccharomyces exiguus geeignet.

SEQ ID No. 139: 5'-CTGCCACAAGGACAAATGGT

SEQ ID No. 140: 5'-TGCCCCCTCTTCTAAGCAAAT

Die Sequenzen SEQ ID No. 139 und SEQ ID No. 140 sind vor allem zum Nachweis von Saccharomycodes ludwigii geeignet.

b) Nukleinsäuresondenmoleküle, die spezifisch getränkeschädliche Schimmelpilze nachweisen:

SEQ ID No. 141: 5'-AAGACCAGGCCACCTCAT

Die Sequenz SEQ ID No. 141 ist vor allem zum Nachweis von *Mucor racemosus* geeignet.

SEQ ID No. 142: 5'- CATCATAGAACACCGTCC

Die Sequenz SEQ ID No. 142 ist vor allem zum Nachweis von Byssochlamys nivea geeignet.

SEQ ID No. 143: 5'- CCTTCCGAAGTCGAGGTTTT

Die Sequenz SEQ ID No. 143 ist vor allem zum spezifischen Nachweis von Neosartorya fischeri geeignet.

SEQ ID No. 144: 5'- GGGAGTGTTGCCAACTC

Die Sequenz SEQ ID No. 144 ist vor allem zum gleichzeitigen Nachweis von Aspergillus fumigatus und A. fischeri geeignet.

SEQ ID No. 145: 5'- AGCGGTCGTTCGCAACCCT

Die Sequenz SEQ ID No. 145 ist vor allem zum Nachweis von Talaromyces flavus geeignet.

SEQ ID No. 146: 5'- CCGAAGTCGGGGTTTTGCGG

Die Sequenz SEQ ID No. 146 ist vor allem zum gleichzeitigen Nachweis von *Talaromyces* bacillisporus und *T. flavus* geeignet.

c) Nukleinsäuresondenmoleküle, die spezifisch getränkeschädliche Milchsäurebakterien nachweisen:

5'- GATAGCCGAAACCACCTTTC SEQ ID No. 147: SEQ ID No. 148: 5'- GCCGAAACCACCTTTCAAAC SEQ ID No. 149: 5'- GTGATAGCCGAAACCACCTT SEQ ID No. 150: 5'- AGTGATAGCCGAAACCACCT SEQ ID No. 151: 5'- TTTAACGGGATGCGTTCGAC SEQ ID No. 152: 5'- AAGTGATAGCCGAAACCACC 5'- GGTTGAATACCGTCAACGTC SEQ ID No. 153: 5'- GCACAGTATGTCAAGACCTG SEQ ID No. 154: 5'- CATCCGATGTGCAAGCACTT SEQ ID No. 155: SEQ ID No. 156: 5'- TCATCCGATGTGCAAGCACT 5'- CCGATGTGCAAGCACTTCAT SEQ ID No. 157: 5'- CCACTCATCCGATGTGCAAG SEQ ID No. 158: SEQ ID No. 159: 5'- GCCACAGTTCGCCACTCATC 5'- CCTCCGCGTTTGTCACCGGC SEQ ID No. 160: 5'- ACCAGTTCGCCACAGTTCGC SEQ ID No. 161: 5'- CACTCATCCGATGTGCAAGC SEQ ID No. 162:

SEQ ID No. 163: 5'- CCAGTTCGCCACAGTTCGCC SEQ ID No. 164: 5'- CTCATCCGATGTGCAAGCAC SEQ ID No. 165: 5'- TCCGATGTGCAAGCACTTCA SEQ ID No. 166: 5'- CGCCACTCATCCGATGTGCA SEQ ID No. 167: 5'- CAGTTCGCCACAGTTCGCCA SEQ ID No. 168: 5'- GCCACTCATCCGATGTGCAA SEQ ID No. 169: 5'- CGCCACAGTTCGCCACTCAT SEQ ID No. 170: 5'- ATCCGATGTGCAAGCACTTC SEQ ID No. 171: 5'- GTTCGCCACAGTTCGCCACT SEQ ID No. 172: 5'- TCCTCCGCGTTTGTCACCGG 5'- CGCCAGGGTTCATCCTGAGC SEQ ID No. 173: **SEQ ID No. 174:** 5'- AGTTCGCCACAGTTCGCCAC 5'- TCGCCACAGTTCGCCACTCA SEQ ID No. 175: 5'- TTAACGGGATGCGTTCGACT SEQ ID No. 176: **SEQ ID No. 177:** 5'- TCGCCACTCATCCGATGTGC 5'- CCACAGTTCGCCACTCATCC SEQ ID No. 178: SEQ ID No. 179: 5'- GATTTAACGGGATGCGTTCG SEQ ID No. 180: 5'- TAACGGGATGCGTTCGACTT SEQ ID No. 181: 5'- AACGGGATGCGTTCGACTTG 5'- CGAAGGTTACCGAACCGACT SEQ ID No. 182: SEQ ID No. 183: 5'- CCGAAGGTTACCGAACCGAC 5'- CCCGAAGGTTACCGAACCGA SEQ ID No. 184: SEQ ID No. 185: 5'- TTCCTCCGCGTTTGTCACCG SEQ ID No. 186: 5'- CCGCCAGGGTTCATCCTGAG SEQ ID No. 187: 5'- TCCTTCCAGAAGTGATAGCC SEQ ID No. 188: 5'- CACCAGTTCGCCACAGTTCG SEQ ID No. 189: 5'- ACGGGATGCGTTCGACTTGC SEQ ID No. 190: 5'- GTCCTTCCAGAAGTGATAGC

SEQ ID No. 191: 5'- GCCAGGGTTCATCCTGAGCC SEQ ID No. 192: 5'- ACTCATCCGATGTGCAAGCA SEQ ID No. 193: 5'- ATCATTGCCTTGGTGAACCG SEQ ID No. 194: 5'- TCCGCGTTTGTCACCGGCAG SEQ ID No. 195: 5'- TGAACCGTTACTCCACCAAC 5'- GAAGTGATAGCCGAAACCAC SEQ ID No. 196: SEQ ID No. 197: 5'- CCGCGTTTGTCACCGGCAGT SEQ ID No. 198: 5'- TTCGCCACTCATCCGATGTG SEQ ID No. 199: 5'- CATTTAACGGGATGCGTTCG SEQ ID No. 200: 5'- CACAGTTCGCCACTCATCCG SEQ ID No. 201: 5'- TTCGCCACAGTTCGCCACTC 5'- CTCCGCGTTTGTCACCGGCA SEQ ID No. 202: SEQ ID No. 203: 5'- ACGCCGCCAGGGTTCATCCT SEQ ID No. 204: 5'- CCTTCCAGAAGTGATAGCCG SEQ ID No. 205: 5'- TCATTGCCTTGGTGAACCGT SEQ ID No. 206: 5'- CACAGTATGTCAAGACCTGG 5'- TTGGTGAACCGTTACTCCAC SEQ ID No. 207: SEQ ID No. 208: 5'- CTTGGTGAACCGTTACTCCA SEQ ID No. 209: 5'- GTGAACCGTTACTCCACCAA 5'- GGCTCCCGAAGGTTACCGAA SEQ ID No. 210: SEQ ID No. 211: 5'- GAAGGTTACCGAACCGACTT SEQ ID No. 212: 5'- TGGCTCCCGAAGGTTACCGA SEQ ID No. 213: 5'- TAATACGCCGCGGGTCCTTC SEQ ID No. 214: 5'- GAACCGTTACTCCACCAACT SEQ ID No. 215: 5'- TACGCCGCGGGTCCTTCCAG SEQ ID No. 216: 5'- TCACCAGTTCGCCACAGTTC SEQ ID No. 217: 5'- CCTTGGTGAACCGTTACTCC SEQ ID No. 218: 5'- CTCACCAGTTCGCCACAGTT

	5'- CGCCGCCAGGGTTCATCCTG
SEQ ID No. 219:	
SEQ ID No. 220:	5'- CCTTGGTGAACCATTACTCC
SEQ ID No. 221:	5'- TGGTGAACCATTACTCCACC
SEQ ID No. 222:	5'- GCCGCCAGGGTTCATCCTGA
SEQ ID No. 223:	5'- GGTGAACCATTACTCCACCA
SEQ ID No. 224:	5'- CCAGGGTTCATCCTGAGCCA
SEQ ID No. 225:	5'- AATACGCCGCGGGTCCTTCC
SEQ ID No. 226:	5'- CACGCCGCCAGGGTTCATCC
SEQ ID No. 227:	5'- AGTTCGCCACTCATCCGATG
SEQ ID No. 228:	5'- CGGGATGCGTTCGACTTGCA
SEQ ID No. 229:	5'- CATTGCCTTGGTGAACCGTT
SEQ ID No. 230:	5'- GCACGCCGCCAGGGTTCATC
SEQ ID No. 231:	5'- CTTCCTCCGCGTTTGTCACC
SEQ ID No. 232:	5'- TGGTGAACCGTTACTCCACC
SEQ ID No. 233:	5'- CCTTCCTCCGCGTTTGTCAC
SEQ ID No. 234:	5'- ACGCCGCGGGTCCTTCCAGA
SEQ ID No. 235:	5'- GGTGAACCGTTACTCCACCA
SEQ ID No. 236:	5'- GGGTCCTTCCAGAAGTGATA
SEQ ID No. 237:	5'- CTTCCAGAAGTGATAGCCGA
SEQ ID No. 238:	5'- GCCTTGGTGAACCATTACTC
SEQ ID No. 239:	5'- ACAGTTCGCCACTCATCCGA
SEQ ID No. 240:	5'- ACCTTCCTCCGCGTTTGTCA
SEQ ID No. 241:	5'- CGAACCGACTTTGGGTGTTG
SEQ ID No. 242:	5'- GAACCGACTTTGGGTGTTGC
SEQ ID No. 243:	5'- AGGTTACCGAACCGACTTTG
SEQ ID No. 244:	5'- ACCGAACCGACTTTGGGTGT
SEQ ID No. 245:	5'- TTACCGAACCGACTTTGGGT
SEQ ID No. 246:	5'- TACCGAACCGACTTTGGGTG
•	

SEQ ID No. 247: 5'- GTTACCGAACCGACTTTGGG

Die Sequenzen SEQ ID No. 147 bis SEQ ID No. 247 sind vor allem zum Nachweis von *Lactobacillus collinoides* geeignet.

SEQ ID No. 248:	5'- AGTTGCAGTCCAGTAAGCCG
SEQ ID No. 249:	5'- GTTGCAGTCCAGTAAGCCGC
SEQ ID No. 250:	5'- CAGTTGCAGTCCAGTAAGCC
SEQ ID No. 251:	5'- TGCAGTCCAGTAAGCCGCCT
SEQ ID No. 252:	5'- TCAGTTGCAGTCCAGTAAGC
SEQ ID No. 253:	5'- TTGCAGTCCAGTAAGCCGCC
SEQ ID No. 254:	5'- GCAGTCCAGTAAGCCGCCTT
SEQ ID No. 255:	5'- GTCAGTTGCAGTCCAGTAAG
SEQ ID No. 256:	5'- CTCTAGGTGACGCCGAAGCG
SEQ ID No. 257:	5'- ATCTCTAGGTGACGCCGAAG
SEQ ID No. 258:	5'- TCTAGGTGACGCCGAAGCGC
SEQ ID No. 259:	5'- TCTCTAGGTGACGCCGAAGC
SEQ ID No. 260:	5'- CCATCTCTAGGTGACGCCGA
SEQ ID No. 261:	5'- CATCTCTAGGTGACGCCGAA
SEQ ID No. 262:	5'- TAGGTGACGCCGAAGCGCCT
SEQ ID No. 263:	5'- CTAGGTGACGCCGAAGCGCC
SEQ ID No. 264:	5'- CTTAGACGGCTCCTTCCTAA
SEQ ID No. 265:	5'- CCTTAGACGGCTCCTTCCTA
SEQ ID No. 266:	5'- ACGTCAGTTGCAGTCCAGTA
SEQ ID No. 267:	5'- CGTCAGTTGCAGTCCAGTAA
SEQ ID No. 268:	5'- ACGCCGAAGCGCCTTTTAAC
SEQ ID No. 269:	5'- GACGCCGAAGCGCCTTTTAA
SEQ ID No. 270:	5'- GCCGAAGCGCCTTTTAACTT

SEQ ID No. 271: 5'- CGCCGAAGCGCCTTTTAACT
SEQ ID No. 272: 5'- GTGACGCCGAAGCGCCTTTT
SEQ ID No. 273: 5'- TGACGCCGAAGCGCCTTTTA
SEQ ID No. 274: 5'- AGACGGCTCCTTCCTAAAAG
SEQ ID No. 275: 5'- ACGGCTCCTTCCTAAAAGGT
SEQ ID No. 276: 5'- GACGGCTCCTTCCTAAAAGG
SEQ ID No. 277: 5'- CCTTCCTAAAAGGT

Die Sequenzen SEQ ID No. 248 bis SEQ ID No. 277 sind vor allem zum gleichzeitigen Nachweis von Leuconostoc mesenteroides und L. pseudomesenteroides geeignet.

SEQ ID No. 278: 5'- GGTGACGCCAAAGCGCCTTT SEQ ID No. 279: 5'- AGGTGACGCCAAAGCGCCTT SEQ ID No. 280: 5'- TAGGTGACGCCAAAGCGCCT SEQ ID No. 281: 5'- CTCTAGGTGACGCCAAAGCG 5'- TCTAGGTGACGCCAAAGCGC SEQ ID No. 282: SEQ ID No. 283: 5'- CTAGGTGACGCCAAAGCGCC SEQ ID No. 284: 5'- ACGCCAAAGCGCCTTTTAAC SEQ ID No. 285: 5'- CGCCAAAGCGCCTTTTAACT SEQ ID No. 286: 5'- TGACGCCAAAGCGCCTTTTA SEQ ID No. 287: 5'- TCTCTAGGTGACGCCAAAGC 5'- GTGACGCCAAAGCGCCTTTT SEQ ID No. 288: SEQ ID No. 289: 5'- GACGCCAAAGCGCCTTTTAA SEQ ID No. 290: 5'- ATCTCTAGGTGACGCCAAAG SEQ ID No. 291: 5'- CATCTCTAGGTGACGCCAAA SEQ ID No. 292: 5'- TCCATCTCTAGGTGACGCCA SEQ ID No. 293: 5'- CCATCTCTAGGTGACGCCAA SEQ ID No. 294: 5'- CTGCCTTAGACGGCTCCCCC

SEQ ID No. 295: 5'- CCTGCCTTAGACGGCTCCCC SEQ ID No. 296: 5'- GTGTCATGCGACACTGAGTT SEQ ID No. 297: 5'- TGTGTCATGCGACACTGAGT SEQ ID No. 298: 5'- CTTTGTGTCATGCGACACTG SEQ ID No. 299: 5'- TTGTGTCATGCGACACTGAG SEQ ID No. 300: 5'- TGCCTTAGACGGCTCCCCCT SEQ ID No. 301: 5'- AGACGGCTCCCCTAAAAGG SEQ ID No. 302: 5'- TAGACGGCTCCCCCTAAAAG 5'- GCCTTAGACGCCTCCCCCTA SEQ ID No. 303: 5'- GCTCCCCCTAAAAGGTTAGG SEQ ID No. 304: 5'- GGCTCCCCCTAAAAGGTTAG SEQ ID No. 305: 5'- CTCCCCCTAAAAGGTTAGGC SEQ ID No. 306: 5'- TCCCCCTAAAAGGTTAGGCC SEQ ID No. 307: SEQ ID No. 308: 5'- CCCTAAAAGGTTAGGCCACC SEQ ID No. 309: 5'- CCCCTAAAAGGTTAGGCCAC SEQ ID No. 310: 5'- CGGCTCCCCTAAAAGGTTA 5'- CCCCCTAAAAGGTTAGGCCA SEQ ID No. 311: SEQ ID No. 312: 5'- CTTAGACGGCTCCCCTAAA SEQ ID No. 313: 5'- TTAGACGGCTCCCCTAAAA SEQ ID No. 314: 5'- GGGTTCGCAACTCGTTGTAT SEQ ID No. 315: 5'- CCTTAGACGGCTCCCCTAA SEQ ID No. 316: 5'- ACGGCTCCCCCTAAAAGGTT SEQ ID No. 317: 5'- GACGGCTCCCCCTAAAAGGT

Die Sequenzen SEQ ID No. 278 bis SEQ ID No. 317 sind vor allem zum Nachweis von Leuconostoc pseudomesenteroides geeignet.

SEQ ID No. 318: 5'- ACGCCGCAAGACCATCCTCT

SEQ ID No. 319: 5'- CTAATACGCCGCAAGACCAT SEQ ID No. 320: 5'- TACGCCGCAAGACCATCCTC SEQ ID No. 321: 5'- GTTACGATCTAGCAAGCCGC SEQ ID No. 322: 5'- AATACGCCGCAAGACCATCC SEQ ID No. 323: 5'- CGCCGCAAGACCATCCTCTA SEQ ID No. 324: 5'- GCTAATACGCCGCAAGACCA SEQ ID No. 325: 5'- ACCATCCTCTAGCGATCCAA SEQ ID No. 326: 5'- TAATACGCCGCAAGACCATC SEQ ID No. 327: 5'- AGCCATCCCTTTCTGGTAAG SEQ ID No. 328: 5'- ATACGCCGCAAGACCATCCT SEQ ID No. 329: 5'- AGTTACGATCTAGCAAGCCG 5'- AGCTAATACGCCGCAAGACC SEQ ID No. 330: SEQ ID No. 331: 5'- GCCGCAAGACCATCCTCTAG SEQ ID No. 332: 5'- TTACGATCTAGCAAGCCGCT 5'- GACCATCCTCTAGCGATCCA SEQ ID No. 333: SEQ ID No. 334: 5'- TTGCTACGTCACTAGGAGGC 5'- ACGTCACTAGGAGGCGGAAA SEQ ID No. 335: SEQ ID No. 336: 5'- TTTGCTACGTCACTAGGAGG SEQ ID No. 337: 5'- GCCATCCCTTTCTGGTAAGG SEQ ID No. 338: 5'- TACGTCACTAGGAGGCGGAA SEQ ID No. 339: 5'- CGTCACTAGGAGGCGGAAAC 5'- AAGACCATCCTCTAGCGATC SEQ ID No. 340: SEQ ID No. 341: 5'- GCACGTATTTAGCCATCCCT SEQ ID No. 342: 5'- CTCTAGCGATCCAAAAGGAC SEQ ID No. 343: 5'- CCTCTAGCGATCCAAAAGGA SEQ ID No. 344: 5'- CCATCCTCTAGCGATCCAAA SEQ ID No. 345: 5'- GGCACGTATTTAGCCATCCC SEQ ID No. 346: 5'- TACGATCTAGCAAGCCGCTT

SEQ ID No. 347: 5'- CAGTTACGATCTAGCAAGCC SEQ ID No. 348: 5'- CCGCAAGACCATCCTCTAGC SEQ ID No. 349: 5'- CCATCCCTTTCTGGTAAGGT SEQ ID No. 350: 5'- AGACCATCCTCTAGCGATCC SEQ ID No. 351: 5'- CAAGACCATCCTCTAGCGAT SEQ ID No. 352: 5'- GCTACGTCACTAGGAGGCGG SEQ ID No. 353: 5'- TGCTACGTCACTAGGAGGCG SEQ ID No. 354: 5'- CTACGTCACTAGGAGGCGGA SEQ ID No. 355: 5'- CCTCAACGTCAGTTACGATC 5'- GTCACTAGGAGGCGGAAACC SEQ ID No. 356: SEQ ID No. 357: 5'- TCCTCTAGCGATCCAAAAGG SEQ ID No. 358: 5'- TGGCACGTATTTAGCCATCC 5'- ACGATCTAGCAAGCCGCTTT SEQ ID No. 359: SEQ ID No. 360: 5'- GCCAGTCTCTCAACTCGGCT SEQ ID No. 361: 5'- AAGCTAATACGCCGCAAGAC SEQ ID No. 362: 5'- GTTTGCTACGTCACTAGGAG SEQ ID No. 363: 5'- CGCCACTCTAGTCATTGCCT SEQ ID No. 364: 5'- GGCCAGCCAGTCTCTCAACT SEQ ID No. 365: 5'- CAGCCAGTCTCTCAACTCGG SEQ ID No. 366: 5'- CCCGAAGATCAATTCAGCGG 5'- CCGGCCAGTCTCTCAACTCG SEQ ID No. 367: SEQ ID No. 368: 5'- CCAGCCAGTCTCTCAACTCG 5'- TCATTGCCTCACTTCACCCG SEQ ID No. 369: SEQ ID No. 370: 5'- GCCAGCCAGTCTCTCAACTC SEQ ID No. 371: 5'- CACCCGAAGATCAATTCAGC SEQ ID No. 372: 5'- GTCATTGCCTCACTTCACCC SEQ ID No. 373: 5'- CATTGCCTCACTTCACCCGA SEQ ID No. 374: 5'- ATTGCCTCACTTCACCCGAA

5'- CGAAGATCAATTCAGCGGCT SEQ ID No. 375: 5'- AGTCATTGCCTCACTTCACC SEQ ID No. 376: **SEQ ID No. 377:** 5'- TCGCCACTCTAGTCATTGCC SEQ ID No. 378: 5'- TTGCCTCACTTCACCCGAAG SEQ ID No. 379: 5'- CGGCCAGTCTCTCAACTCGG SEQ ID No. 380: 5'- CTGGCACGTATTTAGCCATC 5'- ACCCGAAGATCAATTCAGCG SEQ ID No. 381: SEQ ID No. 382: 5'- TCTAGCGATCCAAAAGGACC 5'- CTAGCGATCCAAAAGGACCT SEQ ID No. 383: SEQ ID No. 384: 5'- GCACCCATCGTTTACGGTAT 5'- CACCCATCGTTTACGGTATG SEQ ID No. 385: 5'- GCCACTCTAGTCATTGCCTC SEQ ID No. 386: 5'- CGTTTGCTACGTCACTAGGA SEQ ID No. 387: SEQ ID No. 388: 5'- GCCTCAACGTCAGTTACGAT SEQ ID No. 389: 5'- GCCGGCCAGTCTCTCAACTC SEQ ID No. 390: 5'- TCACTAGGAGGCGGAAACCT 5'- AGCCTCAACGTCAGTTACGA SEQ ID No. 391: 5'- AGCCAGTCTCTCAACTCGGC SEQ ID No. 392: SEQ ID No. 393: 5'- GGCCAGTCTCTCAACTCGGC 5'- CAAGCTAATACGCCGCAAGA SEQ ID No. 394: 5'- TTCGCCACTCTAGTCATTGC SEQ ID No. 395: SEQ ID No. 396: 5'- CCGAAGATCAATTCAGCGGC 5'- CGCAAGACCATCCTCTAGCG SEQ ID No. 397: 5'- GCAAGACCATCCTCTAGCGA SEQ ID No. 398: 5'- GCGTTTGCTACGTCACTAGG SEQ ID No. 399: SEQ ID No. 400: 5'- CCACTCTAGTCATTGCCTCA SEQ ID No. 401: 5'- CACTCTAGTCATTGCCTCAC SEQ ID No. 402: 5'- CCAGTCTCTCAACTCGGCTA

5'- TTACCTTAGGCACCGGCCTC SEQ ID No. 403: SEQ ID No. 404: 5'- ACAAGCTAATACGCCGCAAG SEQ ID No. 405: 5'- TTTACCTTAGGCACCGGCCT SEQ ID No. 406: 5'- TTTTACCTTAGGCACCGGCC SEQ ID No. 407: 5'- ATTTTACCTTAGGCACCGGC SEQ ID No. 408: 5'- GATTTTACCTTAGGCACCGG SEQ ID No. 409: 5'- CTCACTTCACCCGAAGATCA SEQ ID No. 410: 5'- ACGCCACCAGCGTTCATCCT SEQ ID No. 411: 5'- GCCAAGCGACTTTGGGTACT 5'- CGGAAAATTCCCTACTGCAG SEQ ID No. 412: SEQ ID No. 413: 5'- CGATCTAGCAAGCCGCTTTC SEQ ID No. 414: 5'- GGTACCGTCAAGCTGAAAAC 5'- TGCCTCACTTCACCCGAAGA SEQ ID No. 415: 5'- GGCCGGCCAGTCTCTCAACT SEQ ID No. 416: SEQ ID No. 417: 5'- GGTAAGGTACCGTCAAGCTG 5'- GTAAGGTACCGTCAAGCTGA SEQ ID No. 418:

Die Sequenzen SEQ ID No. 318 bis SEQ ID No. 418 sind vor allem zum Nachweis von *Oenococcus oenos* geeignet.

SEQ ID No. 419: 5'- AACCCTTCATCACACACG SEQ ID No. 420: 5'- CGAAACCCTTCATCACAC SEQ ID No. 421: 5'- ACCCTTCATCACACACGC SEQ ID No. 422: 5'- TACCGTCACACACTGAAC SEQ ID No. 423: 5'- AGATACCGTCACACACTG 5'- CACTCAAGGGCGGAAACC SEQ ID No. 424: SEQ ID No. 425: 5'- ACCGTCACACACTGAACA 5'- CGTCACACACTGAACAGT SEQ ID No. 426:

SEQ ID No. 427: 5'- CCGAAACCCTTCATCACA SEQ ID No. 428: 5'- CCGTCACACACTGAACAG SEQ ID No. 429: 5'- GATACCGTCACACACTGA SEQ ID No. 430: 5'- GGTAAGATACCGTCACAC SEQ ID No. 431: 5'- CCCTTCATCACACACGCG SEQ ID No. 432: 5'- ACAGTGTTTTACGAGCCG SEQ ID No. 433: 5'- CAGTGTTTTACGAGCCGA SEQ ID No. 434: 5'- ACAAAGCGTTCGACTTGC SEQ ID No. 435: 5'- CGGATAACGCTTGGAACA SEQ ID No. 436: 5'- AGGGCGGAAACCCTCGAA SEQ ID No. 437: 5'- GGGCGGAAACCCTCGAAC 5'- GGCGGAAACCCTCGAACA SEQ ID No. 438: SEQ ID No. 439: 5'- TGAGGGCTTTCACTTCAG SEQ ID No. 440: 5'- AGGGCTTTCACTTCAGAC 5'- GAGGGCTTTCACTTCAGA SEQ ID No. 441: SEQ ID No. 442: 5'- ACTGCACTCAAGTCATCC SEQ ID No. 443: 5'- CCGGATAACGCTTGGAAC 5'- TCCGGATAACGCTTGGAA SEQ ID No. 444: SEQ ID No. 445: 5'- TATCCCCTGCTAAGAGGT SEQ ID No. 446: 5'- CCTGCTAAGAGGTAGGTT 5'- CCCTGCTAAGAGGTAGGT SEQ ID No. 447: SEQ ID No. 448: 5'- CCCCTGCTAAGAGGTAGG SEQ ID No. 449: 5'- TCCCCTGCTAAGAGGTAG SEQ ID No. 450: 5'- ATCCCCTGCTAAGAGGTA SEO ID No. 451: 5'- CCGTTCCTTTCTGGTAAG SEQ ID No. 452: 5'- GCCGTTCCTTTCTGGTAA. 5'- AGCCGTTCCTTTCTGGTA SEQ ID No. 453: 5'- GCACGTATTTAGCCGTTC SEQ ID No. 454:

SEQ ID No. 455: 5'- CACGTATTTAGCCGTTCC SEQ ID No. 456: 5'- GGCACGTATTTAGCCGTT 5'- CACTTTCCTCTACTGCAC SEQ ID No. 457: SEQ ID No. 458: 5'- CCACTTTCCTCTACTGCA SEQ ID No. 459: 5'- TCCACTTTCCTCTACTGC SEQ ID No. 460: 5'- CTTTCCTCTACTGCACTC SEQ ID No. 461: 5'- TAGCCGTTCCTTTCTGGT SEQ ID No. 462: 5'- TTAGCCGTTCCTTTCTGG SEQ ID No. 463: 5'- TTATCCCCTGCTAAGAGG SEQ ID No. 464: 5'- GTTATCCCCTGCTAAGAG SEQ ID No. 465: 5'- CCCGTTCGCCACTCTTTG 5'- AGCTGAGGGCTTTCACTT SEQ ID No. 466: 5'- GAGCTGAGGGCTTTCACT SEQ ID No. 467: SEQ ID No. 468: 5'- GCTGAGGGCTTTCACTTC SEQ ID No. 469: 5'- CTGAGGGCTTTCACTTCA

Die Sequenzen SEQ ID No. 419 bis SEQ ID No. 469 sind vor allem zum Nachweis von Bakterien der Gattung Weissella geeignet.

SEQ ID No. 470: 5' CCCGTGTCCCGAAGGAAC SEQ ID No. 471: 5' GCACGAGTATGTCAAGAC SEQ ID No. 472: 5' GTATCCCGTGTCCCGAAG SEQ ID No. 473: 5' TCCCGTGTCCCGAAGGAA SEQ ID No. 474: 5' ATCCCGTGTCCCGAAGGA SEQ ID No. 475: 5' TATCCCGTGTCCCGAAGG SEQ ID No. 476: 5' CTTACCTTAGGAAGCGCC SEQ ID No. 477: 5' TTACCTTAGGAAGCGCCC 5' CCTGTATCCCGTGTCCCG SEQ ID No. 478:

SEQ ID No. 479: 5' CCACCTGTATCCCGTGTC SEQ ID No. 480: 5' CACCTGTATCCCGTGTCC SEQ ID No. 481: 5' ACCTGTATCCCGTGTCCC SEQ ID No. 482: 5' CTGTATCCCGTGTCCCGA SEQ ID No. 483: 5' TGTATCCCGTGTCCCGAA SEQ ID No. 484: 5' CACGAGTATGTCAAGACC SEQ ID No. 485: 5' CGGTCTTACCTTAGGAAG SEQ ID No. 486: 5' TAGGAAGCGCCCTCCTTG SEQ ID No. 487: 5' AGGAAGCGCCCTCCTTGC SEQ ID No. 488: 5' TTAGGAAGCGCCCTCCTT SEQ ID No. 489: 5' CTTAGGAAGCGCCCTCCT SEQ ID No. 490: 5' CCTTAGGAAGCGCCCTCC SEQ ID No. 491: 5' ACCTTAGGAAGCGCCCTC 5' TGCACACAATGGTTGAGC SEQ ID No. 492: SEQ ID No. 493: 5' TACCTTAGGAAGCGCCCT SEQ ID No. 494: 5' ACCACCTGTATCCCGTGT SEQ ID No. 495: 5' GCACCACCTGTATCCCGT SEQ ID No. 496: 5' CACCACCTGTATCCCGTG SEQ ID No. 497: 5' GCGGTTAGGCAACCTACT SEQ ID No. 498: 5' TGCGGTTAGGCAACCTAC SEQ ID No. 499: 5' TTGCGGTTAGGCAACCTA SEQ ID No. 500: 5' GGTCTTACCTTAGGAAGC SEQ ID No. 501: 5' GCTAATACAACGCGGGAT SEQ ID No. 502: 5' CTAATACAACGCGGGATC SEQ ID No. 503: 5' ATACAACGCGGGATCATC SEQ ID No. 504: 5' CGGTTAGGCAACCTACTT SEQ ID No. 505: 5' TGCACCACCTGTATCCCG SEQ ID No. 506: 5' GAAGCGCCCTCCTTGCGG

SEQ ID No. 507: 5' GGAAGCGCCCTCCTTGCG SEQ ID No. 508: 5' CGTCCCTTTCTGGTTAGA SEQ ID No. 509: 5' AGCTAATACAACGCGGGA SEQ ID No. 510: 5' TAGCTAATACAACGCGGG SEQ ID No. 511: 5' CTAGCTAATACAACGCGG SEQ ID No. 512: 5' GGCTATGTATCATCGCCT SEQ ID No. 513: 5' GAGCCACTGCCTTTTACA SEQ ID No. 514: 5' GTCGGCTATGTATCATCG SEQ ID No. 515: 5' GGTCGGCTATGTATCATC SEQ ID No. 516: 5' CAGGTCGGCTATGTATCA SEQ ID No. 517: 5' CGGCTATGTATCATCGCC SEQ ID No. 518: 5' TCGGCTATGTATCATCGC SEQ ID No. 519: 5' GTCTTACCTTAGGAAGCG SEQ ID No. 520: 5' TCTTACCTTAGGAAGCGC

Die Sequenzen SEQ ID No. 470 bis SEQ ID No. 520 sind vor allem zum Nachweis von Bakterien der Gattung Lactococcus geeignet.

d) Nukleinsäuresondenmoleküle, die spezifisch getränkeschädliche Essigsäurebakterien nachweisen:

SEQ ID No. 521: 5'- GTACAAACCGCCTACACGCC
SEQ ID No. 522: 5'- TGTACAAACCGCCTACACGC
SEQ ID No. 523: 5'- GATCAGCACGATGTCGCCAT
SEQ ID No. 524: 5'- CTGTACAAACCGCCTACACG
SEQ ID No. 525: 5'- GAGATCAGCACGATGTCGCC
SEQ ID No. 526: 5'- AGATCAGCACGATGTCGCCA
SEQ ID No. 527: 5'- ATCAGCACGATGTCGCCATC

SEQ ID No. 528: 5'- TCAGCACGATGTCGCCATCT SEQ ID No. 529: 5'- ACTGTACAAACCGCCTACAC SEQ ID No. 530: 5'- CCGCCACTAAGGCCGAAACC SEQ ID No. 531: 5'- CAGCACGATGTCGCCATCTA SEQ ID No. 532: 5'- TACAAACCGCCTACACGCCC SEQ ID No. 533: 5'- AGCACGATGTCGCCATCTAG SEQ ID No. 534: 5'- CGGCTTTTAGAGATCAGCAC SEQ ID No. 535: 5'- TCCGCCACTAAGGCCGAAAC SEQ ID No. 536: 5'- GACTGTACAAACCGCCTACA **SEQ ID No. 537:** 5'- GTCCGCCACTAAGGCCGAAA SEQ ID No. 538: 5'- GGGGATTTCACATCTGACTG SEQ ID No. 539: 5'- CATACAAGCCCTGGTAAGGT SEQ ID No. 540: 5'- ACAAGCCCTGGTAAGGTTCT SEQ ID No. 541: 5'- ACAAACCGCCTACACGCCCT SEQ ID No. 542: 5'- CTGACTGTACAAACCGCCTA SEQ ID No. 543: 5'- TGACTGTACAAACCGCCTAC SEQ ID No. 544: 5'- ACGATGTCGCCATCTAGCTT SEQ ID No. 545: 5'- CACGATGTCGCCATCTAGCT SEQ ID No. 546: 5'- CGATGTCGCCATCTAGCTTC SEQ ID No. 547: 5'- GCACGATGTCGCCATCTAGC SEQ ID No. 548: 5'- GATGTCGCCATCTAGCTTCC SEQ ID No. 549: 5'- ATGTCGCCATCTAGCTTCCC SEQ ID No. 550: 5'- TGTCGCCATCTAGCTTCCCA SEQ ID No. 551: 5'- GCCATCTAGCTTCCCACTGT SEQ ID No. 552: 5'- TCGCCATCTAGCTTCCCACT SEQ ID No. 553: 5'- CGCCATCTAGCTTCCCACTG SEQ ID No. 554: 5'- GTCGCCATCTAGCTTCCCAC SEQ ID No. 555: 5'- TACAAGCCCTGGTAAGGTTC

SEQ ID No. 556: 5'- GCCACTAAGGCCGAAACCTT SEQ ID No. 557: 5'- ACTAAGGCCGAAACCTTCGT SEQ ID No. 558: 5'- CTAAGGCCGAAACCTTCGTG SEQ ID No. 559: 5'- CACTAAGGCCGAAACCTTCG SEQ ID No. 560: 5'- AAGGCCGAAACCTTCGTGCG SEQ ID No. 561: 5'- CCACTAAGGCCGAAACCTTC SEQ ID No. 562: 5'- TAAGGCCGAAACCTTCGTGC SEQ ID No. 563: 5'- AGGCCGAAACCTTCGTGCGA SEQ ID No. 564: 5'- TCTGACTGTACAAACCGCCT SEQ ID No. 565: 5'- CATCTGACTGTACAAACCGC SEQ ID No. 566: 5'- ATCTGACTGTACAAACCGCC SEQ ID No. 567: 5'- CTTCGTGCGACTTGCATGTG SEQ ID No. 568: 5'- CCTTCGTGCGACTTGCATGT SEQ ID No. 569: 5'- CTCTCTAGAGTGCCCACCCA SEQ ID No. 570: 5'- TCTCTAGAGTGCCCACCCAA SEQ ID No. 571: 5'- ACGTATCAAATGCAGCTCCC SEQ ID No. 572: 5'- CGTATCAAATGCAGCTCCCA SEQ ID No. 573: 5'- CGCCACTAAGGCCGAAACCT SEQ ID No. 574: 5'- CCGAAACCTTCGTGCGACTT SEQ ID No. 575: 5'- GCCGAAACCTTCGTGCGACT SEQ ID No. 576: 5'- AACCTTCGTGCGACTTGCAT SEQ ID No. 577: 5'- CGAAACCTTCGTGCGACTTG SEQ ID No. 578: 5'- ACCTTCGTGCGACTTGCATG SEQ ID No. 579: 5'- GAAACCTTCGTGCGACTTGC **SEQ ID No. 580:** 5'- GGCCGAAACCTTCGTGCGAC SEQ ID No. 581: 5'- AAACCTTCGTGCGACTTGCA SEQ ID No. 582: 5'- CACGTATCAAATGCAGCTCC

Die Sequenzen SEQ ID No. 521 bis SEQ ID No. 582 sind vor allem zum gleichzeitigen Nachweis von Bakterien der Gattungen Acetobacter und Gluconobacter geeignet.

SEQ ID No. 583:	5'- GCTCACCGGCTTAAGGTCAA
SEQ ID No. 584:	5'- CGCTCACCGGCTTAAGGTCA
SEQ ID No. 585:	5'- TCGCTCACCGGCTTAAGGTC
SEQ ID No. 586:	5'- CTCACCGGCTTAAGGTCAAA
SEQ ID No. 587:	5'- CCCGACCGTGGTCGGCTGCG
SEQ ID No. 588:	5'- GCTCACCGGCTTAAGGTCAA
SEQ ID No. 589:	5'- CGCTCACCGGCTTAAGGTCA
SEQ ID No. 590:	5'- TCGCTCACCGGCTTAAGGTC
SEQ ID No. 591:	5'- CTCACCGGCTTAAGGTCAAA
SEQ ID No. 592:	5'- CCCGACCGTGGTCGGCTGCG
SEQ ID No. 593:	5'- TCACCGGCTTAAGGTCAAAC
SEQ ID No. 594:	5'- CAACCCTCTCTCACACTCTA
SEQ ID No. 595:	5'- ACAACCCTCTCTCACACTCT
SEQ ID No. 596:	5'- CCACAACCCTCTCTCACACT
SEQ ID No. 597:	5'- AACCCTCTCTCACACTCTAG
SEQ ID No. 598:	5'- CACAACCCTCTCTCACACTC
SEQ ID No. 599:	5'- TCCACAACCCTCTCTCACAC
SEQ ID No. 600:	5'- TTCCACAACCCTCTCTCACA
SEQ ID No. 601:	5'- ACCCTCTCTCACACTCTAGT
SEQ ID No. 602:	5'- GAGCCAGGTTGCCGCCTTCG
SEQ ID No. 603:	5'- AGGTCAAACCAACTCCCATG
SEQ ID No. 604:	5'- ATGAGCCAGGTTGCCGCCTT
SEQ ID No. 605:	5'- TGAGCCAGGTTGCCGCCTTC
SEQ ID No. 606:	5'- AGGCTCCTCCACAGGCGACT
SEQ ID No. 607:	5'- CAGGCTCCTCCACAGGCGAC

SEQ ID No. 608: 5'- GCAGGCTCCTCCACAGGCGA SEQ ID No. 609: 5'- TTCGCTCACCGGCTTAAGGT SEQ ID No. 610: 5'- GTTCGCTCACCGGCTTAAGG SEQ ID No. 611: 5'- GGTTCGCTCACCGGCTTAAG SEQ ID No. 612: 5'- ATTCCACAACCCTCTCTCAC SEQ ID No. 613: 5'- TGACCCGACCGTGGTCGGCT 5'- CCCTCTCTCACACTCTAGTC SEQ ID No. 614: SEQ ID No. 615: 5'- GAATTCCACAACCCTCTCTC SEQ ID No. 616: 5'- AGCCAGGTTGCCGCCTTCGC SEQ ID No. 617: 5'- GCCAGGTTGCCGCCTTCGCC SEQ ID No. 618: 5'- GGAATTCCACAACCCTCTCT SEQ ID No. 619: 5'- GGGAATTCCACAACCCTCTC SEQ ID No. 620: 5'- AACGCAGGCTCCTCCACAGG 5'- CGGCTTAAGGTCAAACCAAC SEQ ID No. 621: SEQ ID No. 622: 5'- CCGGCTTAAGGTCAAACCAA SEQ ID No. 623: 5'- CACCGGCTTAAGGTCAAACC SEQ ID No. 624: 5'- ACCGGCTTAAGGTCAAACCA SEQ ID No. 625: 5'- ACCCAACATCCAGCACACAT SEQ ID No. 626: 5'- TCGCTGACCCGACCGTGGTC 5'- CGCTGACCCGACCGTGGTCG SEQ ID No. 627: SEQ ID No. 628: 5'- GACCCGACCGTGGTCGGCTG SEQ ID No. 629: 5'- GCTGACCCGACCGTGGTCGG SEQ ID No. 630: 5'- CTGACCCGACCGTGGTCGGC SEQ ID No. 631: 5'- CAGGCGACTTGCGCCTTTGA SEQ ID No. 632: 5'- TCATGCGGTATTAGCTCCAG 5'- ACTAGCTAATCGAACGCAGG SEQ ID No. 633: 5'- CATGCGGTATTAGCTCCAGT SEQ ID No. 634: SEQ ID No. 635: 5'- CGCAGGCTCCTCCACAGGCG

SEQ ID No. 636:	5'- ACGCAGGCTCCTCCACAGGC
SEQ ID No. 637:	5'- CTCAGGTGTCATGCGGTATT
SEQ ID No. 638:	5'- CGCCTTTGACCCTCAGGTGT
SEQ ID No. 639:	5'- ACCCTCAGGTGTCATGCGGT
SEQ ID No. 640:	5'- CCTCAGGTGTCATGCGGTAT
SEQ ID No. 641:	5'- TTTGACCCTCAGGTGTCATG
SEQ ID No. 642:	5'- GACCCTCAGGTGTCATGCGG
SEQ ID No. 643:	5'- TGACCCTCAGGTGTCATGCG
SEQ ID No. 644:	5'- GCCTTTGACCCTCAGGTGTC
SEQ ID No. 645:	5'- TTGACCCTCAGGTGTCATGC
SEQ ID No. 646:	5'- CCCTCAGGTGTCATGCGGTA
SEQ ID No. 647:	5'- CCTTTGACCCTCAGGTGTCA
SEQ ID No. 648:	5'- CTTTGACCCTCAGGTGTCAT
SEQ ID No. 649:	5'- AGTTATCCCCCACCCATGGA
SEQ ID No. 650:	5'- CCAGCTATCGATCATCGCCT
SEQ ID No. 651:	5'- ACCAGCTATCGATCATCGCC
SEQ ID No. 652:	5'- CAGCTATCGATCATCGCCTT
SEQ ID No. 653:	5'- AGCTATCGATCATCGCCTTG
SEQ ID No. 654:	5'- GCTATCGATCATCGCCTTGG
SEQ ID No. 655:	5'- CTATCGATCATCGCCTTGGT
SEQ ID No. 656:	5'- TTCGTGCGACTTGCATGTGT
SEQ ID No. 657:	5'- TCGATCATCGCCTTGGTAGG
SEQ ID No. 658:	5'- ATCGATCATCGCCTTGGTAG
SEQ ID No. 659:	5'- CACAGGCGACTTGCGCCTTT
SEQ ID No. 660:	5'- CCACAGGCGACTTGCGCCTT
SEQ ID No. 661:	
SEQ ID No. 662:	
SEQ ID No. 663:	5'- CCTCCACAGGCGACTTGCGC

5'- CTCCACAGGCGACTTGCGCC SEQ ID No. 664: SEQ ID No. 665: 5'- ACAGGCGACTTGCGCCTTTG 5'- GCTCACCGGCTTAAGGTCAA SEQ ID No. 666: SEQ ID No. 667: 5'- CGCTCACCGGCTTAAGGTCA 5'- TCGCTCACCGGCTTAAGGTC SEQ ID No. 668: 5'- CTCACCGGCTTAAGGTCAAA SEQ ID No. 669: SEQ ID No. 670: 5'- CCCGACCGTGGTCGGCTGCG SEQ ID No. 671: 5'- TCACCGGCTTAAGGTCAAAC SEQ ID No. 672: 5'- CAACCCTCTCTCACACTCTA SEQ ID No. 673: 5'- ACAACCCTCTCTCACACTCT SEQ ID No. 674: 5'- CCACAACCCTCTCTCACACT SEQ ID No. 675: 5'- AACCCTCTCTCACACTCTAG SEQ ID No. 676: 5'- CACAACCCTCTCTCACACTC SEQ ID No. 677: 5'- TCCACAACCCTCTCTCACAC 5'- TTCCACAACCCTCTCTCACA SEQ ID No. 678: SEQ ID No. 679: 5'- ACCCTCTCTCACACTCTAGT 5'- GAGCCAGGTTGCCGCCTTCG SEQ ID No. 680: 5'- AGGTCAAACCAACTCCCATG SEQ ID No. 681: SEQ ID No. 682: 5'- ATGAGCCAGGTTGCCGCCTT 5'- TGAGCCAGGTTGCCGCCTTC SEQ ID No. 683: 5'- AGGCTCCTCCACAGGCGACT SEQ ID No. 684: 5'- CAGGCTCCTCCACAGGCGAC SEQ ID No. 685: 5'- GCAGGCTCCTCCACAGGCGA SEQ ID No. 686: SEQ ID No. 687: 5'- TTCGCTCACCGGCTTAAGGT SEQ ID No. 688: 5'- GTTCGCTCACCGGCTTAAGG SEQ ID No. 689: 5'- GGTTCGCTCACCGGCTTAAG 5'- ATTCCACAACCCTCTCTCAC SEQ ID No. 690: SEQ ID No. 691: 5'- TGACCCGACCGTGGTCGGCT

5'- CCCTCTCTCACACTCTAGTC SEQ ID No. 692: 5'- GAATTCCACAACCCTCTCTC SEQ ID No. 693: SEQ ID No. 694: 5'- AGCCAGGTTGCCGCCTTCGC SEQ ID No. 695: 5'- GCCAGGTTGCCGCCTTCGCC SEQ ID No. 696: 5'- GGAATTCCACAACCCTCTCT SEQ ID No. 697: 5'- GGGAATTCCACAACCCTCTC 5'- AACGCAGGCTCCTCCACAGG SEQ ID No. 698: 5'- CGGCTTAAGGTCAAACCAAC SEQ ID No. 699: SEQ ID No. 700: 5'- CCGGCTTAAGGTCAAACCAA 5'- CACCGGCTTAAGGTCAAACC SEQ ID No. 701: 5'- ACCGGCTTAAGGTCAAACCA SEQ ID No. 702: 5'- ACCCAACATCCAGCACACAT SEQ ID No. 703: 5'- TCGCTGACCCGACCGTGGTC SEQ ID No. 704: SEQ ID No. 705: 5'- CGCTGACCCGACCGTGGTCG SEQ ID No. 706: 5'- GACCCGACCGTGGTCGGCTG 5'- GCTGACCCGACCGTGGTCGG SEQ ID No. 707: 5'- CTGACCCGACCGTGGTCGGC SEQ ID No. 708: SEQ ID No. 709: 5'- CAGGCGACTTGCGCCTTTGA 5'- TCATGCGGTATTAGCTCCAG SEQ ID No. 710: SEQ ID No. 711: 5'- ACTAGCTAATCGAACGCAGG SEQ ID No. 712: 5'- CATGCGGTATTAGCTCCAGT 5'- CGCAGGCTCCTCCACAGGCG SEQ ID No. 713: 5'- ACGCAGGCTCCTCCACAGGC SEQ ID No. 714: SEQ ID No. 715: 5'- CTCAGGTGTCATGCGGTATT 5'- CGCCTTTGACCCTCAGGTGT SEQ ID No. 716: 5'- ACCCTCAGGTGTCATGCGGT SEQ ID No. 717: SEQ ID No. 718: 5'- CCTCAGGTGTCATGCGGTAT SEQ ID No. 719: 5'- TTTGACCCTCAGGTGTCATG

5'- GACCCTCAGGTGTCATGCGG SEQ ID No. 720: SEQ ID No. 721: 5'- TGACCCTCAGGTGTCATGCG 5'- GCCTTTGACCCTCAGGTGTC SEQ ID No. 722: SEQ ID No. 723: 5'- TTGACCCTCAGGTGTCATGC SEQ ID No. 724: 5'- CCCTCAGGTGTCATGCGGTA SEQ ID No. 725: 5'- CCTTTGACCCTCAGGTGTCA 5'- CTTTGACCCTCAGGTGTCAT SEQ ID No. 726: SEQ ID No. 727: 5'- AGTTATCCCCCACCCATGGA 5'- CCAGCTATCGATCATCGCCT SEQ ID No. 728: 5'- ACCAGCTATCGATCATCGCC SEQ ID No. 729: 5'- CAGCTATCGATCATCGCCTT SEQ ID No. 730: 5'- AGCTATCGATCATCGCCTTG SEQ ID No. 731: 5'- GCTATCGATCATCGCCTTGG SEQ ID No. 732: SEQ ID No. 733: 5'- CTATCGATCATCGCCTTGGT 5'- TTCGTGCGACTTGCATGTGT SEQ ID No. 734: SEQ ID No. 735: 5'- TCGATCATCGCCTTGGTAGG 5'- ATCGATCATCGCCTTGGTAG SEQ ID No. 736: SEQ ID No. 737: 5'- CACAGGCGACTTGCGCCTTT SEQ ID No. 738: 5'- CCACAGGCGACTTGCGCCTT SEQ ID No. 739: 5'- TCCACAGGCGACTTGCGCCT SEQ ID No. 740: 5'- TCCTCCACAGGCGACTTGCG SEQ ID No. 741: 5'- CCTCCACAGGCGACTTGCGC SEQ ID No. 742: 5'- CTCCACAGGCGACTTGCGCC SEQ ID No. 743: 5'- ACAGGCGACTTGCGCCTTTG 5'- TCACCGGCTTAAGGTCAAAC SEQ ID No. 744: SEQ ID No. 745: 5'- CAACCCTCTCTCACACTCTA SEQ ID No. 746: 5'- ACAACCCTCTCTCACACTCT SEQ ID No. 747: 5'- CCACAACCCTCTCTCACACT

SEQ ID No. 748: 5'- AACCCTCTCTCACACTCTAG SEQ ID No. 749: 5'- CACAACCCTCTCTCACACTC SEQ ID No. 750: 5'- TCCACAACCCTCTCTCACAC 5'- TTCCACAACCCTCTCTCACA SEQ ID No. 751: SEQ ID No. 752: 5'- ACCCTCTCTCACACTCTAGT SEQ ID No. 753: 5'- GAGCCAGGTTGCCGCCTTCG SEQ ID No. 754: 5'- AGGTCAAACCAACTCCCATG SEQ ID No. 755: 5'- ATGAGCCAGGTTGCCGCCTT SEQ ID No. 756: 5'- TGAGCCAGGTTGCCGCCTTC SEQ ID No. 757: 5'- AGGCTCCTCCACAGGCGACT SEQ ID No. 758: 5'- CAGGCTCCTCCACAGGCGAC SEQ ID No. 759: 5'- GCAGGCTCCTCCACAGGCGA SEQ ID No. 760: 5'- TTCGCTCACCGGCTTAAGGT SEQ ID No. 761: 5'- GTTCGCTCACCGGCTTAAGG SEQ ID No. 762: 5'- GGTTCGCTCACCGGCTTAAG 5'- ATTCCACAACCCTCTCTCAC SEQ ID No. 763: SEQ ID No. 764: 5'- TGACCCGACCGTGGTCGGCT 5'- CCCTCTCTCACACTCTAGTC SEQ ID No. 765: SEQ ID No. 766: 5'- GAATTCCACAACCCTCTCTC SEQ ID No. 767: 5'- AGCCAGGTTGCCGCCTTCGC SEQ ID No. 768: 5'- GCCAGGTTGCCGCCTTCGCC SEQ ID No. 769: 5'- GGAATTCCACAACCCTCTCT SEQ ID No. 770: 5'- GGGAATTCCACAACCCTCTC SEQ ID No. 771: 5'- AACGCAGGCTCCTCCACAGG SEQ ID No. 772: 5'- CGGCTTAAGGTCAAACCAAC SEQ ID No. 773: 5'- CCGGCTTAAGGTCAAACCAA SEQ ID No. 774: 5'- CACCGGCTTAAGGTCAAACC SEQ ID No. 775: 5'- ACCGGCTTAAGGTCAAACCA SEQ ID No. 776: 5'- ACCCAACATCCAGCACACAT SEQ ID No. 777: 5'- TCGCTGACCCGACCGTGGTC SEQ ID No. 778: 5'- CGCTGACCCGACCGTGGTCG SEQ ID No. 779: 5'- GACCCGACCGTGGTCGGCTG SEQ ID No. 780: 5'- GCTGACCCGACCGTGGTCGG SEQ ID No. 781: 5'- CTGACCCGACCGTGGTCGGC SEQ ID No. 782: 5'- CAGGCGACTTGCGCCTTTGA SEQ ID No. 783: 5'- TCATGCGGTATTAGCTCCAG SEQ ID No. 784: 5'- ACTAGCTAATCGAACGCAGG SEQ ID No. 785: 5'- CATGCGGTATTAGCTCCAGT 5'- CGCAGGCTCCTCCACAGGCG SEQ ID No. 786: SEQ ID No. 787: 5'- ACGCAGGCTCCTCCACAGGC SEQ ID No. 788: 5'- CTCAGGTGTCATGCGGTATT SEQ ID No. 789: 5'- CGCCTTTGACCCTCAGGTGT SEQ ID No. 790: 5'- ACCCTCAGGTGTCATGCGGT SEQ ID No. 791: 5'- CCTCAGGTGTCATGCGGTAT 5'- TTTGACCCTCAGGTGTCATG SEQ ID No. 792: SEQ ID No. 793: 5'- GACCCTCAGGTGTCATGCGG SEQ ID No. 794: 5'- TGACCCTCAGGTGTCATGCG SEQ ID No. 795: 5'- GCCTTTGACCCTCAGGTGTC SEQ ID No. 796: 5'- TTGACCCTCAGGTGTCATGC SEQ ID No. 797: 5'- CCCTCAGGTGTCATGCGGTA SEQ ID No. 798: 5'- CCTTTGACCCTCAGGTGTCA SEQ ID No. 799: 5'- CTTTGACCCTCAGGTGTCAT SEQ ID No. 800: 5'- AGTTATCCCCCACCCATGGA SEQ ID No. 801: 5'- CCAGCTATCGATCATCGCCT SEQ ID No. 802: 5'- ACCAGCTATCGATCATCGCC SEQ ID No. 803: 5'- CAGCTATCGATCATCGCCTT

SEQ ID No. 804: 5'- AGCTATCGATCATCGCCTTG SEQ ID No. 805: 5'- GCTATCGATCATCGCCTTGG SEQ ID No. 806: 5'- CTATCGATCATCGCCTTGGT SEQ ID No. 807: 5'- TTCGTGCGACTTGCATGTGT SEQ ID No. 808: 5'- TCGATCATCGCCTTGGTAGG SEQ ID No. 809: 5'- ATCGATCATCGCCTTGGTAG SEQ ID No. 810: 5'- CACAGGCGACTTGCGCCTTT SEQ ID No. 811: 5'- CCACAGGCGACTTGCGCCTT SEQ ID No. 812: 5'- TCCACAGGCGACTTGCGCCT SEQ ID No. 813: 5'- TCCTCCACAGGCGACTTGCG 5'- CCTCCACAGGCGACTTGCGC SEQ ID No. 814: 5'- CTCCACAGGCGACTTGCGCC SEQ ID No. 815: SEQ ID No. 816: 5'- ACAGGCGACTTGCGCCTTTG

Die Sequenzen SEQ ID No. 583 bis SEQ ID No. 816 sind vor allem zum gleichzeitigen Nachweis von Bakterien der Gattungen Acetobacter, Gluconobacter und Gluconoacetobacter geeignet.

e) Nukleinsäuresondenmoleküle, die spezifisch getränkeschädliche Bazillen nachweisen:

SEQ ID No. 817: 5'- AGCCCCGGTTTCCCGGCGTT SEQ ID No. 818: 5'- CGCCTTTCCTTTTTCCTCCA SEQ ID No. 819: 5'- GCCCCGGTTTCCCGGCGTTA SEQ ID No. 820: 5'- GCCGCCTTTCCTTTTTCCTC SEQ ID No. 821: 5'- TAGCCCCGGTTTCCCGGCGT SEQ ID No. 822: 5'- CCGGGTACCGTCAAGGCGCC SEQ ID No. 823: 5'- AAGCCGCCTTTCCTTTTTCC SEQ ID No. 824: 5'- CCCCGGTTTCCCGGCGTTAT

5'- CCGGCGTTATCCCAGTCTTA SEQ ID No. 825: SEQ ID No. 826: 5'- AGCCGCCTTTCCTTTTTCCT SEQ ID No. 827: 5'- CCGCCTTTCCTTTTTCCTCC SEQ ID No. 828: 5'- TTAGCCCCGGTTTCCCGGCG SEQ ID No. 829: 5'- CCCGGCGTTATCCCAGTCTT SEQ ID No. 830: 5'- GCCGGGTACCGTCAAGGCGC SEQ ID No. 831: 5'- GGCCGGGTACCGTCAAGGCG SEQ ID No. 832: 5'- TCCCGGCGTTATCCCAGTCT SEQ ID No. 833: 5'- TGGCCGGGTACCGTCAAGGC 5'- GAAGCCGCCTTTCCTTTTTC SEQ ID No. 834: SEQ ID No. 835: 5'- CCCGGTTTCCCGGCGTTATC SEQ ID No. 836: 5'- CGGCGTTATCCCAGTCTTAC 5'- GGCGTTATCCCAGTCTTACA SEQ ID No. 837: 5'- GCGTTATCCCAGTCTTACAG SEQ ID No. 838: SEQ ID No. 839: 5'- CGGGTACCGTCAAGGCGCCG 5'- ATTAGCCCCGGTTTCCCGGC SEQ ID No. 840: SEQ ID No. 841: 5'- AAGGGGAAGGCCCTGTCTCC SEQ ID No. 842: 5'- GGCCCTGTCTCCAGGGAGGT SEQ ID No. 843: 5'- AGGCCCTGTCTCCAGGGAGG SEQ ID No. 844: 5'- AAGGCCCTGTCTCCAGGGAG SEQ ID No. 845: 5'- GCCCTGTCTCCAGGGAGGTC 5'- CGTTATCCCAGTCTTACAGG SEQ ID No. 846: 5'- GGGTACCGTCAAGGCGCCGC SEQ ID No. 847: SEQ ID No. 848: 5'- CGGCAACAGAGTTTTACGAC SEQ ID No. 849: 5'- GGGGAAGGCCCTGTCTCCAG 5'- AGGGGAAGGCCCTGTCTCCA SEQ ID No. 850: SEQ ID No. 851: 5'- GCAGCCGAAGCCGCCTTTCC SEQ ID No. 852: 5'- TTCTTCCCCGGCAACAGAGT

SEQ ID No. 853: 5'- CGGCACTTGTTCTTCCCCGG SEQ ID No. 854: 5'- GTTCTTCCCCGGCAACAGAG SEQ ID No. 855: 5'- GGCACTTGTTCTTCCCCGGC SEQ ID No. 856: 5'- GCACTTGTTCTTCCCCGGCA SEQ ID No. 857: 5'- CACTTGTTCTTCCCCGGCAA SEQ ID No. 858: 5'- TCTTCCCCGGCAACAGAGTT SEQ ID No. 859: 5'- TTGTTCTTCCCCGGCAACAG SEQ ID No. 860: 5'- ACTTGTTCTTCCCCGGCAAC SEQ ID No. 861: 5'- TGTTCTTCCCCGGCAACAGA SEQ ID No. 862: 5'- CTTGTTCTTCCCCGGCAACA SEQ ID No. 863: 5'- ACGGCACTTGTTCTTCCCCG SEQ ID No. 864: 5'- GTCCGCCGCTAACCTTTTAA SEQ ID No. 865: 5'- CTGGCCGGGTACCGTCAAGG SEQ ID No. 866: 5'- TCTGGCCGGGTACCGTCAAG SEQ ID No. 867: 5'- TTCTGGCCGGGTACCGTCAA SEQ ID No. 868: 5'- CAATGCTGGCAACTAAGGTC 5'- CGTCCGCCGCTAACCTTTTA SEQ ID No. 869: 5'- CGAAGCCGCCTTTCCTTTTT SEQ ID No. 870: SEQ ID No. 871: 5'- CCGAAGCCGCCTTTCCTTTT SEQ ID No. 872: 5'- GCCGAAGCCGCCTTTCCTTT SEQ ID No. 873: 5'- AGCCGAAGCCGCCTTTCCTT SEQ ID No. 874: 5'- ACCGTCAAGGCGCCCCTG SEQ ID No. 875: 5'- CCGTGGCTTTCTGGCCGGGT SEQ ID No. 876: 5'- GCTTTCTGGCCGGGTACCGT SEQ ID No. 877: 5'- GCCGTGGCTTTCTGGCCGGG SEQ ID No. 878: 5'- GGCTTTCTGGCCGGGTACCG SEQ ID No. 879: 5'- CTTTCTGGCCGGGTACCGTC SEQ ID No. 880: 5'- TGGCTTTCTGGCCGGGTACC

5'- GTGGCTTTCTGGCCGGGTAC SEQ ID No. 881: SEQ ID No. 882: 5'- CGTGGCTTTCTGGCCGGGTA SEQ ID No. 883: 5'- TTTCTGGCCGGGTACCGTCA 5'- GGGAAGGCCCTGTCTCCAGG SEQ ID No. 884: SEQ ID No. 885: 5'- CGAAGGGGAAGGCCCTGTCT SEQ ID No. 886: 5'- CCGAAGGGGAAGGCCCTGTC SEQ ID No. 887: 5'- GAAGGGGAAGGCCCTGTCTC SEQ ID No. 888: 5'- GGCGCCCCCTGTTCGAACG 5'- AGGCGCCCCCTGTTCGAAC SEQ ID No. 889: SEQ ID No. 890: 5'- AAGGCGCCCCTGTTCGAA 5'- CCCGGCAACAGAGTTTTACG SEQ ID No. 891: 5'- CCCCGGCAACAGAGTTTTAC SEQ ID No. 892: SEQ ID No. 893: 5'- CCATCTGTAAGTGGCAGCCG SEQ ID No. 894: 5'- TCTGTAAGTGGCAGCCGAAG 5'- CTGTAAGTGGCAGCCGAAGC SEQ ID No. 895: 5'- CCCATCTGTAAGTGGCAGCC SEQ ID No. 896: 5'- TGTAAGTGGCAGCCGAAGCC SEQ ID No. 897: SEQ ID No. 898: 5'- CATCTGTAAGTGGCAGCCGA SEQ ID No. 899: 5'- ATCTGTAAGTGGCAGCCGAA SEQ ID No. 900: 5'- CAGCCGAAGCCGCCTTTCCT 5'- GGCAACAGAGTTTTACGACC SEQ ID No. 901: 5'- CCGGCAACAGAGTTTTACGA SEQ ID No. 902: 5'- TTCCCCGGCAACAGAGTTTT SEQ ID No. 903: SEQ ID No. 904: 5'- CTTCCCCGGCAACAGAGTTT SEQ ID No. 905: 5'- TCCCCGGCAACAGAGTTTTA SEQ ID No. 906: 5'- CCGTCCGCCGCTAACCTTTT

Die Sequenzen SEQ ID No. 817 bis SEQ ID No. 906 sind vor allem zum Nachweis von *Bacillus coagulans* geeignet.

f) Nukleinsäuresondenmoleküle, die spezifisch getränkeschädliche Alicyclobazillen nachweisen:

SEQ ID No. 907:	5'- CTTCCTCCGACTTACGCCGG
SEQ ID No. 908:	5'- CCTCCGACTTACGCCGGCAG
SEQ ID No. 909:	5'- TTCCTCCGACTTACGCCGGC
SEQ ID No. 910:	5'- TCCTCCGACTTACGCCGGCA
SEQ ID No. 911:	5'- TCCGACTTACGCCGGCAGTC
SEQ ID No. 912:	5'- CCGACTTACGCCGGCAGTCA
SEQ ID No. 913:	5'- GCCTTCCTCCGACTTACGCC
SEQ ID No. 914:	5'- CCTTCCTCCGACTTACGCCG
SEQ ID No. 915:	5'- GCTCTCCCCGAGCAACAGAG
SEQ ID No. 916:	5'- CTCTCCCCGAGCAACAGAGC
SEQ ID No. 917:	5'- CGCTCTCCCCGAGCAACAGA
SEQ ID No. 918:	5'- CTCCGACTTACGCCGGCAGT
SEQ ID No. 919:	5'- TCTCCCCGAGCAACAGAGCT
SEQ ID No. 920:	5'- CGACTTACGCCGGCAGTCAC
SEQ ID No. 921:	5'- TCGGCACTGGGGTGTGTCCC
SEQ ID No. 922:	5'- GGCACTGGGGTGTGTCCCCC
SEQ ID No. 923:	5'- CTGGGGTGTGTCCCCCCAAC
SEQ ID No. 924:	5'- CACTGGGGTGTGTCCCCCCA
SEQ ID No. 925:	5'- ACTGGGGTGTGTCCCCCCAA
SEQ ID No. 926:	5'- GCACTGGGGTGTGTCCCCCC
SEQ ID No. 927:	5'- TGGGGTGTGTCCCCCCAACA
SEQ ID No. 928:	5'- CACTCCAGACTTGCTCGACC

SEQ ID No. 929:	5'- TCACTCCAGACTTGCTCGAC
SEQ ID No. 930:	5'- CGGCACTGGGGTGTGTCCCC
SEQ ID No. 931:	5'- CGCCTTCCTCCGACTTACGC
SEQ ID No. 932:	5'- CTCCCGAGCAACAGAGCTT
SEQ ID No. 933:	5'- ACTCCAGACTTGCTCGACCG
SEQ ID No. 934:	5'- CCCATGCCGCTCTCCCCGAG
SEQ ID No. 935:	5'- CCATGCCGCTCTCCCCGAGC
SEQ ID No. 936:	5'- CCCCATGCCGCTCTCCCCGA
SEQ ID No. 937:	5'- TCACTCGGTACCGTCTCGCA
SEQ ID No. 938:	5'- CATGCCGCTCTCCCCGAGCA
SEQ ID No. 939:	5'- ATGCCGCTCTCCCCGAGCAA
SEQ ID No. 940:	5'- TTCGGCACTGGGGTGTGTCC
SEQ ID No. 941:	5'- TGCCGCTCTCCCCGAGCAAC
SEQ ID No. 942:	5'- TTCACTCCAGACTTGCTCGA
SEQ ID No. 943:	5'- CCCGCAAGAAGATGCCTCCT
SEQ ID No. 944:	5'- AGAAGATGCCTCCTCGCGGG
SEQ ID No. 945:	5'- AAGAAGATGCCTCCTCGCGG
SEQ ID No. 946:	5'- CGCAAGAAGATGCCTCCTCG
SEQ ID No. 947:	5'- AAGATGCCTCCTCGCGGGCG
SEQ ID No. 948:	5'- CCGCAAGAAGATGCCTCCTC
SEQ ID No. 949:	5'- GAAGATGCCTCCTCGCGGGC
SEQ ID No. 950:	5'- CCCCGCAAGAAGATGCCTCC
SEQ ID No. 951:	5'- CAAGAAGATGCCTCCTCGCG
SEQ ID No. 952:	5'- TCCTTCGGCACTGGGGTGTG
SEQ ID No. 953:	5'- CCGCTCTCCCCGAGCAACAG
SEQ ID No. 954:	5'- TGCCTCCTCGCGGGCGTATC
SEQ ID No. 955:	5'- GACTTACGCCGGCAGTCACC
SEQ ID No. 956:	5'- GGCTCCTCTCTCAGCGGCCC

. .

SEQ ID No. 957: 5'- CCTTCGGCACTGGGGTGTGT SEQ ID No. 958: 5'- GGGGTGTGTCCCCCCAACAC SEQ ID No. 959: 5'- GCCGCTCTCCCCGAGCAACA SEQ ID No. 960: 5'- AGATGCCTCCTCGCGGGCGT SEQ ID No. 961: 5'- CACTCGGTACCGTCTCGCAT SEQ ID No. 962: 5'- CTCACTCGGTACCGTCTCGC 5'- GCAAGAAGATGCCTCCTCGC SEQ ID No. 963: SEQ ID No. 964: 5'- CTCCAGACTTGCTCGACCGC 5'- TTACGCCGGCAGTCACCTGT SEQ ID No. 965: SEQ ID No. 966: 5'- CTTCGGCACTGGGGTGTGTC SEQ ID No. 967: 5'- CTCGCGGGCGTATCCGGCAT 5'- GCCTCCTCGCGGGCGTATCC SEQ ID No. 968: SEQ ID No. 969: 5'- ACTCGGTACCGTCTCGCATG SEQ ID No. 970: 5'- GATGCCTCCTCGCGGGCGTA SEQ ID No. 971: 5'- GGGTGTGTCCCCCCAACACC 5'- ACTTACGCCGGCAGTCACCT SEQ ID No. 972: 5'- CTTACGCCGGCAGTCACCTG SEQ ID No. 973: SEQ ID No. 974: 5'- ATGCCTCCTCGCGGGCGTAT SEQ ID No. 975: 5'- GCGCCGCGGGCTCCTCTC SEQ ID No. 976: 5'- GGTGTGTCCCCCCAACACCT SEQ ID No. 977: 5'- GTGTGTCCCCCAACACCTA 5'- CCTCGCGGGCGTATCCGGCA SEQ ID No. 978: 5'- CCTCACTCGGTACCGTCTCG SEQ ID No. 979: SEQ ID No. 980: 5'- TCCTCACTCGGTACCGTCTC SEQ ID No. 981: 5'- TCGCGGGCGTATCCGGCATT 5'- TTTCACTCCAGACTTGCTCG SEQ ID No. 982: 5'- TACGCCGGCAGTCACCTGTG SEQ ID No. 983: 5'- TCCAGACTTGCTCGACCGCC SEQ ID No. 984:

SEQ ID No. 985: 5'- CTCGGTACCGTCTCGCATGG 5'- CGCGGGCGTATCCGGCATTA SEQ ID No. 986: SEQ ID No. 987: 5'- GCGTATCCGGCATTAGCGCC 5'- GGGCTCCTCTCTCAGCGGCC SEQ ID No. 988: SEQ ID No. 989: 5'- TCCCCGAGCAACAGAGCTTT 5'- CCCCGAGCAACAGAGCTTTA SEQ ID No. 990: SEQ ID No. 991: 5'- CCGAGCAACAGAGCTTTACA SEQ ID No. 992: 5'- CCATCCCATGGTTGAGCCAT SEQ ID No. 993: 5'- GTGTCCCCCAACACCTAGC SEQ ID No. 994: 5'- GCGGGCGTATCCGGCATTAG SEQ ID No. 995: 5'- CGAGCGGCTTTTTGGGTTTC SEQ ID No. 996: 5'- CTTTCACTCCAGACTTGCTC 5'- TTCCTTCGGCACTGGGGTGT SEQ ID No. 997: SEQ ID No. 998: 5'- CCGCCTTCCTCCGACTTACG 5'- CCCGCCTTCCTCCGACTTAC SEQ ID No. 999: SEQ ID No. 1000: 5'- CCTCCTCGCGGGCGTATCCG SEQ ID No. 1001: 5'- TCCTCGCGGGCGTATCCGGC SEQ ID No. 1002: 5'- CATTAGCGCCCGTTTCCGGG SEQ ID No. 1003: 5'- GCATTAGCGCCCGTTTCCGG 5'- GGCATTAGCGCCCGTTTCCG SEQ ID No. 1004: SEQ ID No. 1005: 5'- GTCTCGCATGGGGCTTTCCA SEQ ID No. 1006: 5'- GCCATGGACTTTCACTCCAG 5'- CATGGACTTTCACTCCAGAC SEQ ID No. 1007:

Die Sequenzen SEQ ID No. 907 bis SEQ ID No. 1007 sind vor allem zum Nachweis von Bakterien der Gattung Alicyclobacillus geeignet.

SEQ ID No. 1008: 5'- CCTTCCTCCGGCTTACGCCGGC

SEQ ID No. 1009: 5'- CCTTCCTCCGACTTGCGCCGGC

SEQ ID No. 1010: 5'- CCTTCCTCCGACTTTCACCGGC

Die Nukleinsäuresondenmoleküle gemäß SEQ ID No. 1008 bis SEQ ID No. 1010 werden als unmarkierte Kompetitorsonden für den Nachweis von Alicyclobacillus ssp. gemeinsam mit der Oligonukleotidsonde gemäß SEQ ID No. 907 eingesetzt, um das Binden der markierten, für Alicyclobacillus ssp. spezifischen Oligonukleotidsonde an Nukleinsäuresequenzen, die nicht spezifisch für Alicyclobacillus ssp. sind, zu verhindern.

SEQ ID No. 1011: 5'- ACCGTCTCACAAGGAGCTTT

SEQ ID No. 1012: 5'- TACCGTCTCACAAGGAGCTT

SEQ ID No. 1013: 5'- GTACCGTCTCACAAGGAGCT

SEQ ID No. 1014: 5'- GCCTACCCGTGTATTATCCG

SEQ ID No. 1015: 5'- CCGTCTCACAAGGAGCTTTC

SEQ ID No. 1016: 5'- CTACCCGTGTATTATCCGGC

SEQ ID No. 1017: 5'- GGTACCGTCTCACAAGGAGC

SEQ ID No. 1018: 5'- CGTCTCACAAGGAGCTTTCC

SEQ ID No. 1019: 5'- TCTCACAAGGAGCTTTCCAC

SEQ ID No. 1020: 5'- TACCCGTGTATTATCCGGCA

SEQ ID No. 1021: 5'- GTCTCACAAGGAGCTTTCCA

SEQ ID No. 1022: 5'- ACCCGTGTATTATCCGGCAT

SEQ ID No. 1023: 5'- CTCGGTACCGTCTCACAAGG

SEQ ID No. 1024: 5'- CGGTACCGTCTCACAAGGAG

SEQ ID No. 1025: 5'- ACTCGGTACCGTCTCACAAG

SEQ ID No. 1026: 5'- CGGCTGGCTCCATAACGGTT

SEQ ID No. 1027: 5'- ACAAGTAGATGCCTACCCGT

SEQ ID No. 1028: 5'- TGGCTCCATAACGGTTACCT

5'- CAAGTAGATGCCTACCCGTG SEQ ID No. 1029: SEQ ID No. 1030: 5'- CACAAGTAGATGCCTACCCG 5'- GGCTCCATAACGGTTACCTC SEQ ID No. 1031: SEQ ID No. 1032: 5'- ACACAAGTAGATGCCTACCC 5'- CTGGCTCCATAACGGTTACC SEQ ID No. 1033: 5'- GCTGGCTCCATAACGGTTAC SEQ ID No. 1034: SEQ ID No. 1035: 5'- GGCTGGCTCCATAACGGTTA 5'- GCTCCATAACGGTTACCTCA SEQ ID No. 1036: 5'- AAGTAGATGCCTACCCGTGT SEQ ID No. 1037: SEQ ID No. 1038: 5'- CTCCATAACGGTTACCTCAC 5'- TGCCTACCCGTGTATTATCC SEQ ID No. 1039: 5'- TCGGTACCGTCTCACAAGGA SEQ ID No. 1040: SEQ ID No. 1041: 5'- CTCACAAGGAGCTTTCCACT 5'- GTAGATGCCTACCCGTGTAT SEQ ID No. 1042: 5'- CCTACCCGTGTATTATCCGG SEQ ID No. 1043: SEQ ID No. 1044: 5'- CACTCGGTACCGTCTCACAA 5'- CTCAGCGATGCAGTTGCATC SEQ ID No. 1045: SEQ ID No. 1046: 5'- AGTAGATGCCTACCCGTGTA 5'- GCGGCTGGCTCCATAACGGT SEQ ID No. 1047: 5'- CCAAAGCAATCCCAAGGTTG SEQ ID No. 1048: SEQ ID No. 1049: 5'- TCCATAACGGTTACCTCACC 5'- CCCGTGTATTATCCGGCATT SEQ ID No. 1050: 5'- TCTCAGCGATGCAGTTGCAT SEQ ID No. 1051: SEQ ID No. 1052: 5'- CCATAACGGTTACCTCACCG 5'- TCAGCGATGCAGTTGCATCT SEQ ID No. 1053: 5'- GGCGGCTGGCTCCATAACGG SEQ ID No. 1054: SEQ ID No. 1055: 5'- AAGCAATCCCAAGGTTGAGC SEQ ID No. 1056: 5'- TCACTCGGTACCGTCTCACA

SEQ ID No. 1057: 5'- CCGAGTGTTATTCCAGTCTG SEQ ID No. 1058: 5'- CACAAGGAGCTTTCCACTCT SEQ ID No. 1059: 5'- ACAAGGAGCTTTCCACTCTC SEQ ID No. 1060: 5'- TCACAAGGAGCTTTCCACTC SEQ ID No. 1061: 5'- CAGCGATGCAGTTGCATCTT 5'- CAAGGAGCTTTCCACTCTCC SEQ ID No. 1062: SEQ ID No. 1063: 5'- CCAGTCTGAAAGGCAGATTG SEQ ID No. 1064: 5'- CAGTCTGAAAGGCAGATTGC 5'- CGGCGGCTGGCTCCATAACG SEQ ID No. 1065: SEQ ID No. 1066: 5'- CCTCTCTCAGCGATGCAGTT SEQ ID No. 1067: 5'- CTCTCTCAGCGATGCAGTTG SEQ ID No. 1068: 5'- TCTCTCAGCGATGCAGTTGC SEQ ID No. 1069: 5'- CTCTCAGCGATGCAGTTGCA 5'- CAATCCCAAGGTTGAGCCTT SEQ ID No. 1070: SEQ ID No. 1071: 5'- AATCCCAAGGTTGAGCCTTG SEQ ID No. 1072: 5'- AGCAATCCCAAGGTTGAGCC SEQ ID No. 1073: 5'- CTCACTCGGTACCGTCTCAC SEQ ID No. 1074: 5'- GCAATCCCAAGGTTGAGCCT SEQ ID No. 1075: 5'- GCCTTGGACTTTCACTTCAG SEQ ID No. 1076: 5'- CATAACGGTTACCTCACCGA SEQ ID No. 1077: 5'- CTCCTCTCAGCGATGCAG SEQ ID No. 1078: 5'- TCGGCGGCTGGCTCCATAAC SEQ ID No. 1079: 5'- AGTCTGAAAGGCAGATTGCC SEQ ID No. 1080: 5'- TCCTCTCTCAGCGATGCAGT SEQ ID No. 1081: 5'- CCCAAGGTTGAGCCTTGGAC SEQ ID No.: 1082: 5'- ATAACGGTTACCTCACCGAC SEQ ID No. 1083: 5'- TCCCAAGGTTGAGCCTTGGA SEQ ID No. 1084: 5'- ATTATCCGGCATTAGCACCC

5'- CTACGTGCTGGTAACACAGA SEQ ID No. 1085: 5'- GCCGCTAGCCCCGAAGGGCT SEQ ID No. 1086: 5'- CTAGCCCCGAAGGGCTCGCT SEQ ID No. 1087: 5'- CGCTAGCCCCGAAGGGCTCG SEQ ID No. 1088: 5'- AGCCCCGAAGGGCTCGCTCG SEQ ID No. 1089: 5'- CCGCTAGCCCCGAAGGGCTC SEQ ID No. 1090: 5'- TAGCCCCGAAGGGCTCGCTC SEQ ID No. 1091: 5'- GCTAGCCCCGAAGGGCTCGC SEQ ID No. 1092: 5'- GCCCCGAAGGGCTCGCTCGA SEQ ID No. 1093: 5'- ATCCCAAGGTTGAGCCTTGG SEQ ID No. 1094: 5'- GAGCCTTGGACTTTCACTTC SEQ ID No. 1095: 5'- CAAGGTTGAGCCTTGGACTT SEQ ID No. 1096: 5'- GAGCTTTCCACTCTCCTTGT SEQ ID No. 1097: 5'- CCAAGGTTGAGCCTTGGACT SEQ ID No. 1098: 5'- CGGGCTCCTCTCTCAGCGAT SEQ ID No. 1099: 5'- GGAGCTTTCCACTCTCCTTG SEQ ID No. 1100: 5'- GGGCTCCTCTCTCAGCGATG SEQ ID No. 1101: 5'- TCTCCTTGTCGCTCTCCCCG SEQ ID No. 1102: 5'- TCCTTGTCGCTCTCCCCGAG SEQ ID No. 1103: 5'- AGCTTTCCACTCTCCTTGTC SEQ ID No. 1104: 5'- CCACTCTCCTTGTCGCTCTC SEQ ID No. 1105: 5'- GGCTCCTCTCTCAGCGATGC SEQ ID No. 1106: 5'- CCTTGTCGCTCTCCCCGAGC SEQ ID No. 1107: 5'- CACTCTCCTTGTCGCTCTCC SEQ ID No. 1108: 5'- ACTCTCCTTGTCGCTCTCCC SEQ ID No. 1109: 5'- CTCTCCTTGTCGCTCTCCCC SEQ ID No.: 1110: 5'- GCGGGCTCCTCTCAGCGA SEQ ID No. 1111: 5'- GGCTCCATCATGGTTACCTC SEQ ID No. 1112:

Die Sequenzen SEQ ID No. 1011 bis SEQ ID No. 1112 sind vor allem zum Nachweis von Alicyclobacillus acidoterrestris geeignet.

SEQ ID No. 1113: 5'- CCGTCTCCTAAGGAGCTTTCCA

Das Nukleinsäuresondenmolekül gemäß SEQ ID No. 1113 wird als unmarkierte Kompetitorsonde für den Nachweis von Alicyclobacillus acidoterrestris gemeinsam mit der Oligonukleotidsonde gemäß SEQ ID No. 1018 eingesetzt, um das Binden der markierten, für Alicyclobacillus acidoterrestris spezifischen Oligonukleotidsonde an Nukleinsäuresequenzen, die nicht spezifisch für Alicyclobacillus acidoterrestris sind, zu verhindern.

SEQ ID No. 1114: 5'- TCCCTCCTTAACGGTTACCTCA

SEQ ID No. 1115: 5'- TGGCTCCATAA(A/T)GGTTACCTCA

Die Nukleinsäuresondenmoleküle gemäß SEQ ID No. 1114 bis SEQ ID No. 1115 werden als unmarkierte Kompetitorsonden für den Nachweis von Alicyclobacillus acidoterrestris gemeinsam mit der Oligonukleotidsonde gemäß SEQ ID No. 1031 eingesetzt, um das Binden der markierten, für Alicyclobacillus acidoterrestris spezifischen Oligonukleotidsonde an Nukleinsäuresequenzen, die nicht spezifisch für Alicyclobacillus acidoterrestris sind, zu verhindern.

SEQ ID No. 1116: 5'- CTTCCTCCGGCTTGCGCCGG

SEQ ID No. 1117: 5'- CGCTCTTCCCGA(G/T)TGACTGA

SEQ ID No. 1118: 5'- CCTCGGGCTCCTCCATC(A/T)GC

Die Sequenzen SEQ ID No. 1116 bis SEQ ID No. 1118 sind vor allem zum gleichzeitigen Nachweis von Alicyclobacillus cycloheptanicus und A. herbarius geeignet.

Gegenstand der Erfindung sind auch Abwandlungen der obigen Oligonukleotidsequenzen, die trotz der Abweichungen in der Sequenz und/oder Länge eine spezifische Hybridisierung mit Ziel-Nukleinsäuresequenzen des jeweiligen Mikroorganismus zeigen und sich dadurch für den Einsatz des erfindungsgemäßen Verfahrens eignen und einen spezifischen Nachweis des jeweiligen Mikroorganismus gewährleisten. Hierunter fallen insbesondere

Nukleinsäuremoleküle, die (i) mit einer der obigen Oligonukleotidsequenzen (SEQ ID No. 1 bis 1007, 1011 bis 1112, 1116 bis 1118) in mindestens 80 %, bevorzugt in mindestens 90 % und besonders bevorzugt in mindestens 92 %, 94 %, 96 % der Basen übereinstimmen, oder die (ii) sich von obigen Oligonukleotidsequenzen durch eine oder mehrere Deletionen und/oder Additionen unterscheiden und eine spezifische Hybridisierung mit Nukleinsäuresequenzen von getränkeschädlichen Hefen der Gattungen Zygosaccharomyces, Hanseniaspora, Candida, Saccharomyces und Saccharomycodes, insbesondere der Spezies Zygosaccharomyces bailii, Z. mellis, Z. rouxii, Z. bisporus, Hanseniaspora uvarum, Candida intermedia, Saccharomyces exiguus, Saccharomycodes ludwigii oder von getränkeschädlichen Schimmelpilzen der Gattungen Mucor, Byssochlamys, Neosartorya, Aspergillus und Talaromyces, insbesondere der Spezies Mucor racemosus, Byssochlamys nivea, Neosartorya fischeri, Aspergillus fumigatu und A. fischeri, Talaromyces flavus, T. bacillisporus und T. flavus oder von getränkeschädlichen Bakterien der Gattungen Lactobacillus, Leuconostoc, Oenococcus, Weissella, Lactococcus, Acetobacter, Gluconobacter, Gluconoacetobacter, Bacillus und Alicyclobacillus, insbesondere der Spezies Lactobacillus collinoides, Leuconostoc mesenteroides, L. pseudomesenteroides, Oenococcus oenos, Bacillus coagulans, Alicyclobacillus ssp., A. acidoterrestris, A. cycloheptanicus und A. herbarius ermöglichen. Dabei bedeutet "spezifische Hybridisierung", dass unter den hier beschriebenen oder dem Durchschnittsfachmann im Zusammenhang mit in situ-Hybridisierungstechniken bekannten stringenten

- Hybridisierungsbedingungen nur die ribosomale RNA der Ziel-Organismen, nicht aber die rRNA von Nicht-Ziel-Organismen an das Oligonukleotid bindet.
- b) Nukleinsäuremoleküle, die mit einer zu den unter a) genannten Nukleinsäuremolekülen oder einer zu den Sonden SEQ ID No. 1 bis 1007, 1011 bis 1112, 1116 bis 1118 komplementären Sequenz unter stringenten Bedingungen (s.u.) hybridisieren.
- c) Nukleinsäuremoleküle, die eine Oligonukleotidsequenz von SEQ ID No. 1 bis 1007, 1011 bis 1112, 1116 bis 1118 oder die Sequenz eines Nukleinsäuremoleküls nach a) oder b) umfassen und zusätzlich zu den genannten Sequenzen bzw. deren Abwandlungen nach a) oder b) mindestens ein weiteres Nukleotid aufweisen und eine spezifische Hybridisierung mit Nukleinsäuresequenzen von Ziel-Organismen ermöglichen.

Ebenso sind Gegenstand der Erfindung Abwandlungen der obigen Kompetitorsondensequenzen, die trotz der Abweichungen in der Sequenz und/oder Länge eine spezifische Hybridisierung mit Nukleinsäuresequenzen von nicht nachzuweisenden Mikroorganismengattungen bzw. -spezies gewährleisten und dadurch das Binden der Oligonukleotidsonde an die Nukleinsäuresequenzen der nicht nachzuweisenden Mikroorganismengattungen bzw. -spezies verhindern. Sie eignen sich für den Einsatz des erfindungsgemäßen Verfahrens und gewährleisten einen spezifischen Nachweis des jeweiligen Mikroorganismus. Hierunter fallen insbesondere

a) Nukleinsäuremoleküle, die (i) mit einer der obigen Oligonukleotidsequenzen (SEQ ID No. 1008 bis 1010, 1113 bis 1115) in mindestens 80 %, bevorzugt in mindestens 90 % und besonders bevorzugt in mindestens 92 %, 94 %, 96 % der Basen übereinstimmen, oder die (ii) sich von obigen Oligonukleotidsequenzen durch eine oder mehrere Deletionen und/oder Additionen unterscheiden und das Binden einer spezifischen Oligonukleotidsonde an die Nukleinsäuresequenz eines nicht nachzuweisenden Mikroorganismus verhindern.

- b) Nukleinsäuremoleküle, die mit einer zu den unter a) genannten Nukleinsäuremolekülen oder einer zu den Sonden SEQ ID No. 1008 bis 1010, 1113 bis 1115 komplementären Sequenz unter stringenten Bedingungen (s.u.) hybridisieren.
- c) Nukleinsäuremoleküle, die eine Oligonukleotidsequenz von SEQ ID No. 1008 bis 1010, 1113 bis 1115 oder die Sequenz eines Nukleinsäuremoleküls nach a) oder b) umfassen und zusätzlich zu den genannten Sequenzen bzw. deren Abwandlungen nach a) oder b) mindestens ein weiteres Nukleotid aufweisen und das Binden einer spezifischen Oligonukleotidsonde an die Nukleinsäuresequenz eines nicht nachzuweisenden Mikroorganismus verhindern.

Der Grad der Sequenzidentität eines Nukleinsäuresondenmoleküls mit den Oligonukleotidsonden mit der SEQ ID No. 1 bis SEQ ID No. 1118 kann mit üblichen Algorithmen bestimmt werden. Geeignet ist hierzu beispielsweise das Programm zur Bestimmung der Sequenzidentität, das unter http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST (auf dieser Seite z.B. der Link "Standard nucleotide-nucleotide BLAST [blastn]") zugänglich ist.

"Hybridisieren" kann im Rahmen dieser Erfindung gleichbedeutend sein mit "komplementär". Im Rahmen dieser Erfindung sind auch solche Oligonukleotide umfasst, die mit dem (theoretischen) Gegenstrang eines erfindungsgemäßen Oligonukleotids, einschließlich der erfindungsgemäßen Abwandlungen der SEQ ID No. 1 bis SEQ ID No. 1117, hybridisieren.

Der Begriff "stringente Bedingungen" steht allgemein für Bedingungen, unter denen eine Nukleinsäuresequenz präferenziell an ihre Zielsequenz hybridisieren wird, und zu einem deutlich geringeren Ausmaß oder gar nicht an andere Sequenzen. Stringente Bedingungen sind z.T. Sequenz-abhängig und werden unter verschiedenen Umständen unterschiedlich sein. Längere Sequenzen hybridisieren spezifisch bei höheren Temperaturen. Im Allgemeinen werden stringente Bedingungen so ausgewählt, dass die Temperatur etwa 5°C unter dem

thermischen Schmelzpunkt (T_m) für die spezifische Sequenz bei einer definierten Ionenstärke und einem definierten pH liegt. Die T_m ist die Temperatur (unter definierter Ionenstärke, pH und Nukleinsäurekonzentration), bei der 50 % der zu der Zielsequenz komplementären Moleküle zu der Zielsequenz im Gleichgewichtszustand hybridisieren.

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresondenmoleküle können im Rahmen des Nachweisverfahrens mit verschiedenen Hybridisierungslösungen eingesetzt werden. Verschiedene organische Lösungsmittel können hierbei in Konzentrationen von 0 % bis 80 % eingesetzt werden. Durch das Einhalten von stringenten Hybridisierungsbedingungen wird gewährleistet, dass das Nukleinsäuresondenmolekül auch tatsächlich mit der Zielsequenz hybridisiert. Moderate Bedingungen im Sinne der Erfindung sind z.B. 0 % Formamid in einem Hybridisierungspuffer wie er nachfolgend beschrieben ist. Stringente Bedingungen im Sinne der Erfindung sind beispielsweise 20 % bis 80 % Formamid im Hybridisierungspuffer.

Im Rahmen des erfindungsgemäßen Verfahrens zum spezifischen Nachweis von Hefen der Gattungen Zygosaccharomyces, Hanseniaspora, Candida, Saccharomyces und Saccharomycodes, insbesondere der Spezies Zygosaccharomyces bailii, Z. mellis, Z. rouxii, Z. bisporus, Hanseniaspora uvarum, Candida intermedia, Saccharomyces exiguus, Saccharomycodes ludwigii enthält eine typische Hybridisierungslösung 0 % bis 80 % Formamid, bevorzugt 20 % bis 60 % Formamid, besonders bevorzugt 40 % Formamid. Sie hat außerdem eine Salzkonzentration von 0,1 Mol/l bis 1,5 Mol/l, bevorzugt von 0,7 Mol/l bis 1,0 Mol/l, besonders bevorzugt von 0,9 Mol/l, wobei es sich bei dem Salz vorzugsweise um Natriumchlorid handelt. Weiter umfasst die Hybridisierungslösung üblicherweise ein Detergens, wie z.B. Natriumdodecylsulfat (SDS), in einer Konzentration von 0,001 % bis 0,2 %, vorzugsweise in einer Konzentration von 0,005 % bis 0,05 %, besonders bevorzugt in einer Konzentration von 0,01 %. Zum Puffern der Hybridisierungslösung können verschiedene Verbindungen wie Tris-HCl, Natrium-Citrat, PIPES oder HEPES verwendet werden, die üblicherweise in Konzentrationen von 0,01 Mol/l bis 0,1 Mol/l eingesetzt werden,

bevorzugt von 0,01 Mol/l bis 0,05 Mol/l, in einem pH-Wert-Bereich von 6,0 bis 9,0, bevorzugt 7,0 bis 8,0. Die besonders bevorzugte erfindungsgemäße Ausführung der Hybridisierungslösung beinhaltet 0,02 Mol/l Tris-HCl, pH 8,0.

Im Rahmen des erfindungsgemäßen Verfahrens zum spezifischen Nachweis von Schimmelpilzen der Gattungen Mucor, Byssochlamys, Neosartorya, Aspergillus und Talaromyces, insbesondere der Spezies Mucor racemosus, Byssochlamys nivea, Neosartorya fischeri, Aspergillus fumigatus und A. fischeri, Talaromyces flavus, T. bacillisporus und T. ${\it flavus}$ enthält eine typische Hybridisierungslösung 0 % bis 80 % Formamid, bevorzugt 10 % bis 60 % Formamid, besonders bevorzugt 20 % Formamid. Sie hat außerdem eine Salzkonzentration von 0,1 Mol/l bis 1,5 Mol/l, bevorzugt von 0,7 Mol/l bis 1,0 Mol/l, besonders bevorzugt von 0,9 Mol/l, wobei es sich bei dem Salz vorzugsweise um Natriumchlorid handelt. Weiter umfasst die Hybridisierungslösung üblicherweise ein Detergens, wie z.B. Natriumdodecylsulfat (SDS), in einer Konzentration von 0,001 % bis 0,2 %, vorzugsweise in einer Konzentration von 0,005 % bis 0,05 %, besonders bevorzugt in einer Konzentration von 0,01 %. Zum Puffern der Hybridisierungslösung können verschiedene Verbindungen wie Tris-HCl, Natrium-Citrat, PIPES oder HEPES verwendet werden, die üblicherweise in Konzentrationen von 0,01 Mol/l bis 0,1 Mol/l eingesetzt werden, bevorzugt von 0,01 Mol/l bis 0,05 Mol/l, in einem pH-Wert-Bereich von 6,0 bis 9,0, bevorzugt 7,0 bis 8,0. Die besonders bevorzugte erfindungsgemäße Ausführung der Hybridisierungslösung beinhaltet 0,02 Mol/l Tris-HCl, pH 8,0.

Im Rahmen des erfindungsgemäßen Verfahrens zum spezifischen Nachweis von Bakterien der Gattungen Lactobacillus, Leuconostoc, Oenococcus, Weissella, Lactococcus, Acetobacter, Gluconobacter, Gluconoacetobacter, Bacillus und Alicyclobacillus, insbesondere der Spezies Lactobacillus collinoides, Leuconostoc mesenteroides, L. pseudomesenteroides, Oenococcus oenos, Bacillus coagulans, Alicyclobacillus ssp., A. acidoterrestris, A. cycloheptanicus und A. herbarius enthält eine typische Hybridisierungslösung 0 % bis 80 % Formamid, bevorzugt

10 % bis 60 % Formamid, besonders bevorzugt 20 % Formamid. Sie hat außerdem eine Salzkonzentration von 0,1 Mol/l bis 1,5 Mol/l, bevorzugt von 0,7 Mol/l bis 1,0 Mol/l, besonders bevorzugt von 0,9 Mol/l, wobei es sich bei dem Salz vorzugsweise um Natriumchlorid handelt. Weiter umfasst die Hybridisierungslösung üblicherweise ein Detergens, wie z.B. Natriumdodecylsulfat (SDS), in einer Konzentration von 0,001 % bis 0,2 %, vorzugsweise in einer Konzentration von 0,005 % bis 0,05 %, besonders bevorzugt in einer Konzentration von 0,01 %. Zum Puffern der Hybridisierungslösung können verschiedene Verbindungen wie Tris-HCl, Natrium-Citrat, PIPES oder HEPES verwendet werden, die üblicherweise in Konzentrationen von 0,01 Mol/l bis 0,1 Mol/l eingesetzt werden, bevorzugt von 0,01 Mol/l bis 0,05 Mol/l, in einem pH-Wert-Bereich von 6,0 bis 9,0, bevorzugt 7,0 bis 8,0. Die besonders bevorzugte erfindungsgemäße Ausführung der Hybridisierungslösung beinhaltet 0,02 Mol/l Tris-HCl, pH 8,0.

Es versteht sich, dass der Fachmann die angegebenen Konzentrationen der Bestandteile des Hybridisierungspuffers derart auswählen kann, dass die gewünschte Stringenz der Hybridisierungsreaktion erzielt wird. Besonders bevorzugte Ausführungsformen geben stringente bis besonders stringente Hybridisierungsbedingungen wieder. Unter Einsatz dieser stringenten Bedingungen kann der Fachmann feststellen, ob ein bestimmtes Nukleinsäuremolekül einen spezifischen Nachweis von Nukleinsäuresequenzen von Ziel-Organismen ermöglicht und somit im Rahmen der Erfindung zuverlässig eingesetzt werden kann.

Die Konzentration der Nukleinsäuresonde im Hybridisierungspuffer ist abhängig von der Art ihrer Markierung und der Anzahl der Zielstrukturen. Um eine schnelle und effiziente Hybridisierung zu ermöglichen, sollte die Anzahl der Nukleinsäuresondenmoleküle die Anzahl der Zielstrukturen um mehrere Größenordnungen überschreiten. Allerdings ist bei der Fluoreszenz in situ-Hybridisierung (FISH) darauf zu achten, dass eine zu hohe Menge an fluoreszenzmarkierten Nukleinsäuresondenmolekülen zu erhöhter Hintergrundfluoreszenz

führt. Die Konzentration der Nukleinsäuresondenmoleküle sollte deshalb in einem Bereich zwischen 0,5 bis 500 ng/ μ l liegen. Die im Rahmen der erfindungsgemäßen Verfahren bevorzugte Konzentration beträgt 1 bis 10 ng jedes verwendeten Nukleinsäuresondenmoleküls pro μ l Hybridisierungslösung. Das verwendete Volumen der Hybridisierungslösung sollte zwischen 8 μ l und 100 ml liegen, bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verfahren beträgt es 30 μ l.

Die Konzentration der Kompetitorsonde im Hybridisierungspuffer ist abhängig von der Anzahl der Zielstrukturen. Um eine schnelle und effiziente Hybridisierung zu ermöglichen, sollte die Anzahl der Kompetitorsondenmoleküle die Anzahl der Zielstrukturen um mehrere Größenordnungen überschreiten. Die Konzentration der Kompetitorsondenmoleküle sollte deshalb in einem Bereich zwischen 0,5 bis 500 ng/μl liegen. Die im Rahmen der erfindungsgemäßen Verfahren bevorzugte Konzentration beträgt 1 bis 10 ng jedes verwendeten Kompetitorsondenmoleküls pro μl Hybridisierungslösung. Das verwendete Volumen der Hybridisierungslösung sollte zwischen 8 μl und 100 ml liegen, bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verfahren beträgt es 30 μl.

Die Dauer der Hybridisierung beträgt üblicherweise zwischen 10 Minuten und 12 Stunden; bevorzugt erfolgt die Hybridisierung für etwa 1,5 Stunden. Die Hybridisierungstemperatur beträgt bevorzugt zwischen 44 °C und 48 °C, besonders bevorzugt 46 °C, wobei der Parameter der Hybridisierungstemperatur, wie auch die Konzentration an Salzen und Detergenzien in der Hybridisierungslösung in Abhängigkeit von den Nukleinsäuresonden, insbesondere deren Längen und dem Grad der Komplementarität zur Zielsequenz in der nachzuweisenden Zelle optimiert werden kann. Der Fachmann ist mit einschlägigen Berechnungen hierzu vertraut.

Nach erfolgter Hybridisierung sollten die nicht hybridisierten und überschüssigen Nukleinsäuresondenmoleküle entfernt bzw. abgewaschen werden, was üblicherweise mittels einer

herkömmlichen Waschlösung erfolgt. Diese Waschlösung kann, falls gewünscht, 0,001 % bis 0,1 % eines Detergens wie SDS, bevorzugt 0,005 % bis 0,05 %, besonders bevorzugt 0,01 %, sowie Tris-HCl in einer Konzentration von 0,001 Mol/l bis 0,1 Mol/l, bevorzugt 0,01 Mol/l bis 0,05 Mol/l, besonders bevorzugt 0,02 Mol/l enthalten, wobei der pH-Wert von Tris-HCl im Bereich von 6,0 bis 9,0, vorzugsweise bei 7,0 bis 8,0, besonders bevorzugt bei 8,0 liegt. Ein Detergens kann enthalten sein, ist aber nicht zwingend erforderlich. Weiter enthält die Waschlösung üblicherweise NaCl, wobei die Konzentration je nach benötigter Stringenz von 0,003 Mol/l bis 0,9 Mol/l, bevorzugt von 0,01 Mol/l bis 0,9 Mol/l, beträgt. Des weiteren kann die Waschlösung EDTA enthalten, wobei die Konzentration vorzugsweise 0,005 Mol/l beträgt. Ferner kann die Waschlösung auch dem Fachmann geläufige Konservierungsmittel in geeigneten Mengen enthalten.

Allgemein kommen bei dem Waschschritt Pufferlösungen zum Einsatz, die prinzipiell sehr ähnlich aussehen können wie die Hybridisierungspuffer (gepufferte Natriumchloridlösung), nur dass der Waschschritt in der Regel in einem Puffer mit niedrigerer Salzkonzentration bzw. bei höherer Temperatur durchgeführt wird. Zur theoretischen Abschätzung der Hybridisierungsbedingungen kann folgende Formel verwendet werden:

$$Td = 81,5 + 16,6 lg[Na+] + 0,4 x (% GC) - 820/n - 0,5 x (% FA)$$

Td = Dissoziationstemperatur in °C

[Na+] = Molarität der Natriumionen

% GC = Anteil der Guanin- und Cytosinnukleotide an der Anzahl der Basen

n = Länge des Hybrids

%FA = Formamidgehalt

Mit Hilfe dieser Formel kann z.B. der Formamidanteil (der wegen der Toxizität des Formamids möglichst gering sein sollte) des Waschpuffers durch einen entsprechend

niedrigeren Natriumchloridgehalt ersetzt werden. Allerdings ist dem Fachmann aus der umfangreichen Literatur zu in situ-Hybridisierungsmethoden bekannt, dass und auf welche Weise die genannten Bestandteile variiert werden können. Bezüglich der Stringenz der Hybridisierungsbedingungen gilt das oben im Zusammenhang mit dem Hybridisierungspuffer Gesagte.

Das "Abwaschen" der nicht gebundenen Nukleinsäuresondenmoleküle erfolgt üblicherweise bei einer Temperatur im Bereich von 44 °C bis 52 °C, bevorzugt von 44 °C bis 50 °C und besonders bevorzugt bei 46 °C für eine Dauer von 10 bis 40 Minuten, vorzugsweise für 15 Minuten.

Die spezifisch hybridisierten Nukleinsäuresondenmoleküle können anschließend in den jeweiligen Zellen detektiert werden. Voraussetzung hierfür ist, dass das Nukleinsäuresondenmolekül nachweisbar ist, z.B. dadurch dass das Nukleinsäuresondenmolekül durch kovalente Bindung mit einem Marker verknüpft ist. Als detektierbare Marker werden z.B. fluoreszierende Gruppen wie z.B. CY2 (erhältlich von Amersham Life Sciences, Inc., Arlington Heights, USA), CY3 (ebenfalls erhältlich von Amersham Life Sciences), CY5 (ebenfalls zu beziehen von Amersham Life Sciences), FITC (Molecular Probes Inc., Eugene, USA), FLUOS (erhältlich von Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland), TRITC (erhältlich von Molecular Probes Inc. Eugene, USA), 6-FAM oder FLUOS-PRIME verwendet, die dem Fachmann alle wohlbekannt sind. Auch chemische Marker, radioaktive Marker oder enzymatische Marker wie Meerrettich-Peroxidase, saure Phosphatase, alkalische Phosphatase und Peroxidase können verwendet werden. Für jedes dieser Enzyme ist eine Reihe von Chromogenen bekannt, die anstelle des natürlichen Substrates umgesetzt werden können und entweder zu farbigen oder zu fluoreszierenden Produkten umgesetzt werden können. Beispiele für solche Chromogene sind in der nachfolgenden Tabelle angegeben:

Tabelle

Enzyme	Chromogen
1. Alkalische Phosphatase und	4-Methylumbelliferylphosphat (*),
saure Phosphatase	Bis(4-Methyiumbelliferylphosphat), (*) 3-O-
	Methylfluoreszein, Flavon-3-
	Diphosphattriammoniumsalz (*),
	p-Nitrophenylphosphatdinatriumsalz
2. Peroxidase	Tyraminhydrochlorid (*), 3-(p-Hydroxyphenyl)-
	Propionsäure (*), p-Hydroxyphenethylalkohol(*),
	2,2'-Azino-di-3-ethylbenzthiazolinsulfonsäure
	(ABTS), ortho-Phenylendiamindihydrochlorid,
	o-Dianisidin, 5-Aminosalicylsäure, p-Ucresol (*),
	3,3'-dimethyloxybenzidin, 3-Methyl-2-
	benzothiazolinhydrazon, Tetramethylbenzidin
3. Meerrettichperoxidase	$H_2O_2 + Diammoniumbenzidin$
	$H_2O_2 + Tetramethylbenzidin$
4. β-D-Galaktosidase	o-Nitrophenyl-β-D-galaktopyranosid,
	4-Methylumbelliferyl-β-D-galaktosid
5. Glukoseoxidase	ABTS, Glukose und Thiazolylblau

*Fluoreszenz

Schließlich ist es möglich, die Nukleinsäuresondenmoleküle so zu gestalten, dass an ihrem 5'oder 3'-Ende eine weitere zur Hybridisierung geeignete Nukleinsäuresequenz vorhanden ist.
Diese Nukleinsäuresequenz umfasst wiederum ca. 15 bis 100, bevorzugt 15 bis 50 Nukleo-

tide. Dieser zweite Nukleinsäurebereich kann wiederum von einem Nukleinsäuresondenmolekül erkannt werden, welches durch eines der oben erwähnten Mittel nachweisbar ist.

Eine weitere Möglichkeit besteht in der Kopplung der nachweisbaren Nukleinsäuresondenmoleküle mit einem Hapten, das anschließend mit einem das Hapten erkennenden Antikörper
in Kontakt gebracht werden kann. Als Beispiel für solch ein Hapten kann Digoxigenin
angeführt werden. Dem Fachmann sind über die angegebenen Beispiele hinaus noch weitere
wohlbekannt.

Die abschließende Auswertung ist in Abhängigkeit von der Art der Markierung der verwendeten Sonde mit einem Lichtmikroskop, Epifluoreszenzmikroskop, Chemoluminometer, Fluorometer u.a. möglich.

Ein wichtiger Vorteil der in dieser Anmeldung beschriebenen Verfahren zum spezifischen Nachweis von getränkeschädlichen Hefen der Gattungen Zygosaccharomyces, Hanseniaspora, Candida, Saccharomyces und Saccharomycodes, insbesondere der Spezies Zygosaccharomyces bailii, Z. mellis, Z. rouxii, Z. bisporus, Hanseniaspora uvarum, Candida intermedia, Saccharomyces exiguus, Saccharomycodes ludwigii oder zum spezifischen Nachweis von getränkeschädlichen Schimmelpilzen der Gattungen Mucor, Byssochlamys, Neosartorya, Aspergillus und Talaromyces, insbesondere der Spezies Mucor racemosus, Byssochlamys nivea, Neosartorya fischeri, Aspergillus fumigatu und A. fischeri, Talaromyces flavus, T. bacillisporus und T. flavus oder zum spezifischen Nachweis von getränkeschädlichen Bakterien der Gattungen Lactobacillus, Leuconostoc, Oenococcus, Weissella, Lactococcus, Acetobacter, Gluconobacter, Gluconoacetobacter, Bacillus und Alicyclobacillus, insbesondere der Spezies Lactobacillus collinoides, Leuconostoc mesenteroides, L. pseudomesenteroides, Oenococcus oenos, Bacillus coagulans, Alicyclobacillus ssp., A. acidoterrestris, A. cycloheptanicus und A. herbarius gegenüber den weiter oben beschriebenen Nachweismethoden ist die außergewöhnliche Schnelligkeit. Im

Vergleich zu herkömmlichen Kultivierungsverfahren, die bis zu zehn Tage benötigen, liegt das Ergebnis bei Anwendung der erfindungsgemäßen Verfahren innerhalb von 24 bis 48 Stunden vor.

Ein weiterer Vorteil liegt in der Befähigung, eine genaue Unterscheidung der nachzuweisenden, getränkerelevanten Mikroorganismen vorzunehmen. Mit bislang geläufigen Verfahren wurde beim Nachweis keine Differenzierung der Mikroorganismen bis auf Gattungs- und/oder Artebene vorgenommen, da die Differenzierung entweder gar nicht möglich oder zu zeitaufwendig war.

Ein weiterer Vorteil liegt in der Spezifität dieser Verfahren. Durch die verwendeten Nukleinsäuresondenmoleküle können hochspezifisch getränkeschädliche Hefen der Gattungen Zygosaccharomyces, Hanseniaspora, Candida, Saccharomyces und Saccharomycodes, insbesondere der Spezies Zygosaccharomyces bailii, Z. mellis, Z. rouxii, Z. bisporus, Hanseniaspora uvarum, Candida intermedia, Saccharomyces exiguus, Saccharomycodes ludwigii oder getränkeschädliche Schimmelpilzen der Gattungen Mucor, Byssochlamys, Neosartorya, Aspergillus und Talaromyces, insbesondere der Spezies Mucor racemosus, Byssochlamys nivea, Neosartorya fischeri, Aspergillus fumigatu und A. fischeri, Talaromyces flavus, T. bacillisporus und T. flavus oder getränkeschädliche Bakterien der Gattungen Lactobacillus, Leuconostoc, Oenococcus, Weissella, Lactococcus, Acetobacter, Gluconobacter, Gluconoacetobacter, Bacillus und Alicyclobacillus, insbesondere der Spezies Lactobacillus collinoides, Leuconostoc mesenteroides, L. pseudomesenteroides, Oenococcus oenos, Bacillus coagulans, Alicyclobacillus ssp., A. acidoterrestris, A. cycloheptanicus und A. herbarius nachgewiesen werden. Durch die Visualisierung der Mikroorganismen kann eine gleichzeitige visuelle Kontrolle stattfinden. Falsch positive Ergebnisse, wie sie häufig bei der Polymerase-Ketten-Reaktion auftreten, sind somit ausgeschlossen.

Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Verfahren liegt in der leichten Handhabbarkeit. So können durch die Verfahren leicht große Mengen an Proben auf das Vorhandensein der genannten Mikroorganismen getestet werden.

Die erfindungsgemäßen Verfahren können vielfältig angewendet werden.

So können beispielsweise alkoholfreie Getränke (z.B. Fruchtsäfte, Fruchtnektare, Fruchtkonzentrate, Fruchtpürees, Erfrischungsgetränke und Wässer) auf die Anwesenheit der nachzuweisenden Mikroorganismen untersucht werden.

Auch können beispielsweise Umweltproben auf das Vorhandensein der nachzuweisenden Mikroorganismen untersucht werden. Diese Proben können hierzu z.B. aus dem Boden entnommen oder auch Teile von Pflanzen sein.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann weiter zur Untersuchung von Abwasserproben oder Silageproben eingesetzt werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann weiter zur Untersuchung medizinischer Proben, z.B. von Stuhlproben, Blutkulturen, Sputum, Gewebeproben (auch Schnitte), Wundmaterial, Urin, Proben aus dem Respirationstrakt, Implantate und Katheteroberflächen eingesetzt werden.

Ein weiteres Anwendungsgebiet für das erfindungsgemäße Verfahren ist die Kontrolle von Lebensmitteln. In bevorzugten Ausführungsformen werden die Lebensmittelproben aus Milch oder Milchprodukten (Joghurt, Käse, Quark, Butter, Buttermilch), Trinkwasser, alkoholischen Getränken (z.B. Bier, Wein, Spirituosen), Backwaren oder Fleischwaren entnommen.

Ein weiteres Anwendungsgebiet für das erfindungsgemäße Verfahren ist die Untersuchung pharmazeutischer und kosmetischer Produkte, z.B. Salben, Cremes, Tinkturen, Säfte, Lösungen, Tropfen etc.

Erfindungsgemäß werden weiterhin Kits zur Durchführung der entsprechenden Verfahren zur Verfügung gestellt. Die in diesen Kits enthaltene Hybridisierungsanordnung ist z.B. in der deutschen Patentanmeldung 100 61 655.0 beschrieben. Auf die in diesem Dokument enthaltene Offenbarung bezüglich der in situ-Hybridisierungsanordnung wird hiermit ausdrücklich Bezug genommen.

Außer der beschriebenen Hybridisierungsanordnung (als VIT-Reaktor bezeichnet) umfassen die Kits als wichtigsten Bestandteil die jeweilige Hybridisierungslösung mit den weiter oben beschriebenen für die nachzuweisenden Mikroorganismen spezifischen

Nukleinsäuresondenmolekülen (VIT-Lösung). Weiterhin ist jeweils enthalten der entsprechende Hybridisierungspuffer (Solution C) und ein Konzentrat der entsprechenden Waschlösung (Solution D). Weiterhin sind enthalten gegebenenfalls Fixierungslösungen (Solution A und Solution B) sowie gegebenenfalls eine Einbettlösung (Finisher).

Gegebenenfalls sind Lösungen zur parallelen Durchführung einer Positivkontrolle (Positive Control) sowie einer Negativkontrolle (Negative Control) enthalten.

Das folgende Beispiel soll die Erfindung erläutern, ohne sie einzuschränken:

Beispiel

Spezifischer Schnellnachweis getränkeschädlicher Mikroorganismen in einer Probe

Eine Probe wird in geeigneter Weise 20 bis 48 h kultiviert. Zum Nachweis von Hefen und Schimmelpilzen kann die Kultivierung z.B. in SSL-Bouillon für 24 h bei 25 °C erfolgen. Zum

Nachweis von Milchsäurebakterien kann die Kultivierung z.B. in MRS-Bouillon für 48 h bei 30 °C erfolgen. Zum Nachweis von Essigsäurebakterien kann die Kultivierung z.B. auf DSM-Agar für 48 h bei 28 °C erfolgen. Zum Nachweis von Bazillen, vornehmlich *B. coagulans* kann die Kultivierung z.B. auf Dextrose-Caseinpepton Agar für 48 h bei 55 °C erfolgen. Zum Nachweis von Alicyclobazillen kann die Kultivierung z.B. in BAM-Bouillon für 48 h bei 44 °C erfolgen.

Zu einem Aliquot der Kultur wird dasselbe Volumen Fixierungslösung (Solution B, Ethanol absolut) zugegeben. Alternativ kann auch ein Aliquot der Kultur zentrifugiert werden (4 000 g, 5 min, Raumtemperatur) und – nach Verwerfen des Überstandes – das Pellet in 4 Tropfen Fixierungslösung (Solution B) aufgenommen werden.

Zur Durchführung der Hybridisierung wird ein geeignetes Aliquot der fixierten Zellen (bevorzugt 5 μl) auf einen Objektträger aufgebracht und getrocknet (46 °C, 30 min oder bis vollständig trocken). Alternativ können die Zellen auch auf andere Trägermaterialien (z. B. eine Mikrotiterplatte oder einen Filter) aufgebracht werden. Anschließend werden die getrockneten Zellen vollständig dehydratisiert durch erneuten Zusatz der Fixierungslösung (Solution B). Der Objektträger wird erneut getrocknet (Raumtemperatur, 3 min oder bis vollständig trocken).

Anschließend wird auf die fixierten, dehydratisierten Zellen die Hybridisierungslösung (VIT-Lösung, Hybridisierungspuffer mir markierten Sondenmolekülen) mit den weiter oben beschriebenen für die nachzuweisenden Mikroorganismen spezifischen Nukleinsäuresondenmolekülen aufgebracht. Das bevorzugte Volumen beträgt 40 µl. Der Objektträger wird anschließend in einer mit Hybridisierungspuffer (Solution C) befeuchteten Kammer, bevorzugt dem VIT-Reaktor (siehe DE 100 61 655.0), inkubiert (46 °C, 90 min).

Anschließend wird der Objektträger aus der Kammer entnommen, die Kammer mit Waschlösung befüllt (Solution D, 1:10 verdünnt in destilliertem Wasser) und der Objektträger in dieser inkubiert (46 °C, 15 min).

Anschließend wird die Kammer mit destilliertem Wasser befüllt, der Objektträger kurz eingetaucht und anschließend in seitlicher Stellung luftgetrocknet (46 °C, 30 min oder bis vollständig trocken).

Anschließend wird der Objektträger in einem geeigneten Medium (Finisher) eingebettet.

Abschließend wird die Probe mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops analysiert.

PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zum Nachweis von getränkeschädlichen Mikroorganismen in einer Probe, wobei der Nachweis mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde erfolgt, die eine Nukleinsäuresequenz aufweist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus (sämtliche Sequenzen in 5' → 3'-Richtung):

5'- CCCGGTCGAATTAAAACC SEQ ID No. 1: 5'- GCCCGGTCGAATTAAAAC SEQ ID No. 2: 5'- GGCCCGGTCGAATTAAAA SEQ ID No. 3: 5'- AGGCCCGGTCGAATTAAA SEO ID No. 4: 5'- AAGGCCCGGTCGAATTAA SEQ ID No. 5: 5'- ATATTCGAGCGAAACGCC SEQ ID No. 6: 5'- AAAGATCCGGACCGGCCG SEQ ID No. 7: 5'- GGAAAGATCCGGACCGGC SEQ ID No. 8: 5'- GAAAGATCCGGACCGGCC SEQ ID No. 9: 5'- GATCCGGACCGGCCGACC SEO ID No. 10: 5'- AGATCCGGACCGGCCGAC SEQ ID No. 11: 5'- AAGATCCGGACCGGCCGA SEQ ID No. 12: 5'- GAAAGGCCCGGTCGAATT SEQ ID No. 13: 5'- AAAGGCCCGGTCGAATTA SEQ ID No. 14: 5'- GGAAAGGCCCGGTCGAAT SEQ ID No. 15: 5'- AGGAAAGGCCCGGTCGAA SEQ ID No. 16: 5'- AAGGAAAGGCCCGGTCGA SEQ ID No. 17: 5'- GGAAGAAAACCAGTACGC SEQ ID No. 18: 5'- CCGGTCGGAAGAAACCA SEQ ID No. 19:

SEQ ID No. 20:

SEQ ID No. 21:

5'- GAAGAAAACCAGTACGCG

5'- CCCGGTCGGAAGAAAACC

SEQ ID No. 22:	5'- CGGTCGGAAGAAAACCAG
SEQ ID No. 23:	5'- GGTCGGAAGAAAACCAGT
SEQ ID No. 24:	5'- AAGAAAACCAGTACGCGG
SEQ ID No. 25:	5'- GTACGCGGAAAAATCCGG
SEQ ID No. 26:	5'- AGTACGCGGAAAAATCCG
SEQ ID No. 27:	5'- GCGGAAAAATCCGGACCG
SEQ ID No. 28:	5'- CGGAAGAAAACCAGTACG
SEQ ID No. 29:	5'- GCCCGGTCGGAAGAAAC
SEQ ID No. 30:	5'- CGCGGAAAAATCCGGACC
SEQ ID No. 31:	5'- CAGTACGCGGAAAAATCC
SEQ ID No. 32:	5'- AGAAAACCAGTACGCGGA
SEQ ID No. 33:	5'- GGCCCGGTCGGAAGAAAA
SEQ ID No. 34:	5'- ATAAACACCACCCGATCC
SEQ ID No. 35:	5'- ACGCGGAAAAATCCGGAC
SEQ ID No. 36:	5'- GAGAGGCCCGGTCGGAAG
SEQ ID No. 37:	5'- AGAGGCCCGGTCGGAAGA
SEQ ID No. 38:	5'- GAGGCCCGGTCGGAAGAA
SEQ ID No. 39:	5'- AGGCCCGGTCGGAAGAAA
SEQ ID No. 40:	5'- CCGAGTGGGTCAGTAAAT
SEQ ID No. 41:	5'- CCAGTACGCGGAAAAATC
SEQ ID No. 42:	5'- TAAACACCACCCGATCCC
SEQ ID No. 43:	5'- GGAGAGGCCCGGTCGGAA
SEQ ID No. 44:	5'- GAAAACCAGTACGCGGAA
SEQ ID No. 45:	5'- TACGCGGAAAAATCCGGA
SEQ ID No. 46:	5'- GGCCACAGGGACCCAGGG
SEQ ID No. 47:	5'- TCACCAAGGGCCACAGGG
SEQ ID No. 48:	5'- GGGCCACAGGGACCCAGG
SEQ ID No. 49:	5'- TTCACCAAGGGCCACAGG

SEQ ID No. 50:	5'- ACAGGGACCCAGGGCTAG
SEQ ID No. 51:	5'- AGGGCCACAGGGACCCAG
SEQ ID No. 52:	5'- GTTCACCAAGGGCCACAG
SEQ ID No. 53:	5'- GCCACAGGGACCCAGGGC
SEQ ID No. 54:	5'- CAGGGACCCAGGGCTAGC
SEQ ID No. 55:	5'- AGGGACCCAGGGCTAGCC
SEQ ID No. 56:	5'- ACCAAGGGCCACAGGGAC
SEQ ID No. 57:	5'- CCACAGGGACCCAGGGCT
SEQ ID No. 58:	5'- CACAGGGACCCAGGGCTA
SEQ ID No. 59:	5'- CACCAAGGGCCACAGGGA
SEQ ID No. 60:	5'- GGGACCCAGGGCTAGCCA
SEQ ID No. 61:	5'- AGGAGAGGCCCGGTCGGA
SEQ ID No. 62:	5'- AAGGAGAGGCCCGGTCGG
SEQ ID No. 63:	5'- GAAGGAGAGGCCCGGTCG
SEQ ID No. 64:	5'- AGGGCTAGCCAGAAGGAG
SEQ ID No. 65:	5'- GGGCTAGCCAGAAGGAGA
SEQ ID No. 66:	5'- AGAAGGAGAGGCCCGGTC
SEQ ID No. 67:	5'- CAAGGGCCACAGGGACCC
SEQ ID No. 68:	5'- CCAAGGGCCACAGGGACC
SEQ ID No. 69:	5'- GTCGGAAAAACCAGTACG
SEQ ID No. 70:	5'- GCCCGGTCGGAAAAACCA
SEQ ID No. 71:	5'- CCGGTCGGAAAAACCAGT
SEQ ID No. 72:	5'- CCCGGTCGGAAAAACCAG
SEQ ID No. 73:	5'- TCGGAAAAACCAGTACGC
SEQ ID No. 74:	5'- CGGAAAAACCAGTACGCG
SEQ ID No. 75:	5'- GGAAAAACCAGTACGCGG
SEQ ID No. 76:	5'- GTACGCGGAAAAATCCGG
SEQ ID No. 77:	5'- AGTACGCGGAAAAATCCG

_	
SEQ ID No. 78:	5'- GCGGAAAAATCCGGACCG
SEQ ID No. 79:	5'- GGTCGGAAAAACCAGTAC
SEQ ID No. 80:	5'- ACTCCTAGTGGTGCCCTT
SEQ ID No. 81:	5'- GCTCCACTCCTAGTGGTG
SEQ ID No. 82:	5'- CACTCCTAGTGGTGCCCT
SEQ ID No. 83:	5'- CTCCACTCCTAGTGGTGC
SEQ ID No. 84:	5'- TCCACTCCTAGTGGTGCC
SEQ ID No. 85:	5'- CCACTCCTAGTGGTGCCC
SEQ ID No. 86:	5'- GGCTCCACTCCTAGTGGT
SEQ ID No. 87:	5'- AGGCTCCACTCCTAGTGG
SEQ ID No. 88:	5'- GGCCCGGTCGGAAAAACC
SEQ ID No. 89:	5'- GAAAAACCAGTACGCGGA
SEQ ID No. 90:	5'- CGCGGAAAAATCCGGACC
SEQ ID No. 91:	5'- CAGTACGCGGAAAAATCC
SEQ ID No. 92:	5'- CGGTCGGAAAAACCAGTA
SEQ ID No. 93:	5'- AAGGCCCGGTCGGAAAAA
SEQ ID No. 94:	5'- CAGGCTCCACTCCTAGTG
SEQ ID No. 95:	5'- CTCCTAGTGGTGCCCTTC
SEQ ID No. 96:	5'- TCCTAGTGGTGCCCTTCC
SEQ ID No. 97:	5'- GCAGGCTCCACTCCTAGT
SEQ ID No. 98:	5'- AGGCCCGGTCGGAAAAAC
SEQ ID No. 99:	5'- ACGCGGAAAAATCCGGAC
SEQ ID No. 100:	5'- CCAGTACGCGGAAAAATC
SEQ ID No. 101:	5'- CTAGTGGTGCCCTTCCGT
SEQ ID No. 102:	5'- GAAAGGCCCGGTCGGAAA
SEQ ID No. 103:	5'- AAAGGCCCGGTCGGAAAA
SEQ ID No. 104:	5'- TACGCGGAAAAATCCGGA
SEQ ID No. 105:	5'- GGAAAGGCCCGGTCGGAA

SEQ ID No. 106:	5'- ATCTCTTCCGAAAGGTCG
SEQ ID No. 107:	5'- CATCTCTTCCGAAAGGTC
SEQ ID No. 108:	5'- CTCTTCCGAAAGGTCGAG
SEQ ID No. 109:	5'- CTTCCGAAAGGTCGAGAT
SEQ ID No. 110:	5'- TCTCTTCCGAAAGGTCGA
SEQ ID No. 111:	5'- TCTTCCGAAAGGTCGAGA
SEQ ID No. 112:	5'- CCTAGTGGTGCCCTTCCG
SEQ ID No. 113:	5'- TAGTGGTGCCCTTCCGTC
SEQ ID No. 114:	5'- AGTGGTGCCCTTCCGTCA
SEQ ID No. 115:	5'- GCCAAGGTTAGACTCGTT
SEQ ID No. 116:	5'- GGCCAAGGTTAGACTCGT
SEQ ID No. 117:	5'- CCAAGGTTAGACTCGTTG
SEQ ID No. 118:	5'- CAAGGTTAGACTCGTTGG
SEQ ID No. 119:	5'- AAGGTTAGACTCGTTGGC
SEQ ID No. 120:	5'- GGCCCGGTCGAAATTAAA
SEQ ID No. 121:	5'- AGGCCCGGTCGAAATTAA
SEQ ID No. 122:	5'- AAGGCCCGGTCGAAATTA
SEQ ID No. 123:	5'- AAAGGCCCGGTCGAAATT
SEQ ID No. 124:	5'- GAAAGGCCCGGTCGAAAT
SEQ ID No. 125:	5'- ATATTCGAGCGAAACGCC
SEQ ID No. 126:	5'- GGAAAGGCCCGGTCGAAA
SEQ ID No. 127:	5'- AAAGATCCGGACCGGCCG
SEQ ID No. 128:	5'- GGAAAGATCCGGACCGGC
SEQ ID No. 129:	5'- GAAAGATCCGGACCGGCC
SEQ ID No. 130:	5'- GATCCGGACCGGCCGACC
SEQ ID No. 131:	5'- AGATCCGGACCGGCCGAC
SEQ ID No. 132:	5'- AAGATCCGGACCGGCCGA
SEQ ID No. 133:	5'- AGGAAAGGCCCGGTCGAA

	SEQ ID No. 134:	5'- AAGGAAAGGCCCGGTCGA
	SEQ ID No. 135:	5'-CGAGCAAAACGCCTGCTTTG
	SEQ ID No. 136:	5'-CGCTCTGAAAGAGAGTTGCC
	SEQ ID No. 137:	5'-AGTTGCCCCCTACACTAGAC
	SEQ ID No. 138:	5'-AGTTGCCCCCTCCTAAGC
	SEQ ID No. 139:	5'-CTGCCACAAGGACAAATGGT
	SEQ ID No. 140:	5'-TGCCCCCTCTTCTAAGCAAAT
	SEQ ID No. 141:	5'-AAGACCAGGCCACCTCAT
	SEQ ID No. 142:	5`- CATCATAGAACACCGTCC
	SEQ ID No. 143:	5`- CCTTCCGAAGTCGAGGTTTT
	SEQ ID No. 144:	5`- GGGAGTGTTGCCAACTC
	SEQ ID No. 145:	5'- AGCGGTCGTTCGCAACCCT
	SEQ ID No. 146:	5'- CCGAAGTCGGGGTTTTGCGG
	SEQ ID No. 147:	5'- GATAGCCGAAACCACCTTTC
	SEQ ID No. 148:	5'- GCCGAAACCACCTTTCAAAC
	SEQ ID No. 149:	5'- GTGATAGCCGAAACCACCTT
	SEQ ID No. 150:	5'- AGTGATAGCCGAAACCACCT
	SEQ ID No. 151:	5'- TTTAACGGGATGCGTTCGAC
ļ	SEQ ID No. 152:	5'- AAGTGATAGCCGAAACCACC
	SEQ ID No. 153:	5'- GGTTGAATACCGTCAACGTC
	SEQ ID No. 154:	5'- GCACAGTATGTCAAGACCTG
	SEQ ID No. 155:	5'- CATCCGATGTGCAAGCACTT
	SEQ ID No. 156:	5'- TCATCCGATGTGCAAGCACT
	SEQ ID No. 157:	5'- CCGATGTGCAAGCACTTCAT
	SEQ ID No. 158:	5'- CCACTCATCCGATGTGCAAG
	SEQ ID No. 159:	5'- GCCACAGTTCGCCACTCATC
	SEQ ID No. 160:	5'- CCTCCGCGTTTGTCACCGGC
	SEQ ID No. 161:	5'- ACCAGTTCGCCACAGTTCGC

5'- CACTCATCCGATGTGCAAGC SEQ ID No. 162: 5'- CCAGTTCGCCACAGTTCGCC SEQ ID No. 163: 5'- CTCATCCGATGTGCAAGCAC SEQ ID No. 164: 5'- TCCGATGTGCAAGCACTTCA SEQ ID No. 165: 5'- CGCCACTCATCCGATGTGCA SEQ ID No. 166: 5'- CAGTTCGCCACAGTTCGCCA SEQ ID No. 167: 5'- GCCACTCATCCGATGTGCAA SEQ ID No. 168: 5'- CGCCACAGTTCGCCACTCAT SEQ ID No. 169: 5'- ATCCGATGTGCAAGCACTTC SEQ ID No. 170: 5'- GTTCGCCACAGTTCGCCACT SEQ ID No. 171: 5'- TCCTCCGCGTTTGTCACCGG SEQ ID No. 172: 5'- CGCCAGGGTTCATCCTGAGC SEQ ID No. 173: 5'- AGTTCGCCACAGTTCGCCAC SEQ ID No. 174: 5'- TCGCCACAGTTCGCCACTCA SEQ ID No. 175: 5'- TTAACGGGATGCGTTCGACT SEQ ID No. 176: 5'- TCGCCACTCATCCGATGTGC SEQ ID No. 177: 5'- CCACAGTTCGCCACTCATCC **SEQ ID No. 178:** 5'- GATTTAACGGGATGCGTTCG SEQ ID No. 179: 5'- TAACGGGATGCGTTCGACTT SEQ ID No. 180: 5'- AACGGGATGCGTTCGACTTG SEQ ID No. 181: 5'- CGAAGGTTACCGAACCGACT SEQ ID No. 182: 5'- CCGAAGGTTACCGAACCGAC SEQ ID No. 183: 5'- CCCGAAGGTTACCGAACCGA SEQ ID No. 184: 5'- TTCCTCCGCGTTTGTCACCG SEQ ID No. 185: 5'- CCGCCAGGGTTCATCCTGAG SEQ ID No. 186: 5'- TCCTTCCAGAAGTGATAGCC SEQ ID No. 187: 5'- CACCAGTTCGCCACAGTTCG SEQ ID No. 188: 5'- ACGGGATGCGTTCGACTTGC SEQ ID No. 189:

5'- GTCCTTCCAGAAGTGATAGC SEQ ID No. 190: 5'- GCCAGGGTTCATCCTGAGCC SEQ ID No. 191: 5'- ACTCATCCGATGTGCAAGCA SEQ ID No. 192: 5'- ATCATTGCCTTGGTGAACCG SEQ ID No. 193: 5'- TCCGCGTTTGTCACCGGCAG SEQ ID No. 194: 5'- TGAACCGTTACTCCACCAAC SEQ ID No. 195: 5'- GAAGTGATAGCCGAAACCAC SEQ ID No. 196: 5'- CCGCGTTTGTCACCGGCAGT SEQ ID No. 197: 5'- TTCGCCACTCATCCGATGTG SEQ ID No. 198: 5'- CATTTAACGGGATGCGTTCG SEQ ID No. 199: 5'- CACAGTTCGCCACTCATCCG SEQ ID No. 200: 5'- TTCGCCACAGTTCGCCACTC SEQ ID No. 201: 5'- CTCCGCGTTTGTCACCGGCA SEQ ID No. 202: 5'- ACGCCGCCAGGGTTCATCCT SEQ ID No. 203: 5'- CCTTCCAGAAGTGATAGCCG SEQ ID No. 204: 5'- TCATTGCCTTGGTGAACCGT SEQ ID No. 205: 5'- CACAGTATGTCAAGACCTGG SEQ ID No. 206: 5'- TTGGTGAACCGTTACTCCAC SEQ ID No. 207: 5'- CTTGGTGAACCGTTACTCCA SEQ ID No. 208: 5'- GTGAACCGTTACTCCACCAA SEQ ID No. 209: 5'- GGCTCCCGAAGGTTACCGAA SEQ ID No. 210: 5'- GAAGGTTACCGAACCGACTT SEQ ID No. 211: 5'- TGGCTCCCGAAGGTTACCGA SEQ ID No. 212: 5'- TAATACGCCGCGGGTCCTTC SEQ ID No. 213: 5'- GAACCGTTACTCCACCAACT SEQ ID No. 214: 5'- TACGCCGCGGGTCCTTCCAG SEQ ID No. 215: 5'- TCACCAGTTCGCCACAGTTC SEQ ID No. 216: 5'- CCTTGGTGAACCGTTACTCC SEQ ID No. 217:

5'- CTCACCAGTTCGCCACAGTT SEQ ID No. 218: 5'- CGCCGCCAGGGTTCATCCTG SEQ ID No. 219: 5'- CCTTGGTGAACCATTACTCC SEQ ID No. 220: 5'- TGGTGAACCATTACTCCACC SEQ ID No. 221: 5'- GCCGCCAGGGTTCATCCTGA SEQ ID No. 222: 5'- GGTGAACCATTACTCCACCA SEQ ID No. 223: 5'- CCAGGGTTCATCCTGAGCCA SEQ ID No. 224: 5'- AATACGCCGCGGGTCCTTCC SEQ ID No. 225: 5'- CACGCCGCCAGGGTTCATCC SEQ ID No. 226: 5'- AGTTCGCCACTCATCCGATG **SEQ ID No. 227:** 5'- CGGGATGCGTTCGACTTGCA SEQ ID No. 228: SEQ ID No. 229: 5'- CATTGCCTTGGTGAACCGTT 5'- GCACGCCGCCAGGGTTCATC SEQ ID No. 230: 5'- CTTCCTCCGCGTTTGTCACC SEQ ID No. 231: 5'- TGGTGAACCGTTACTCCACC SEQ ID No. 232: 5'- CCTTCCTCCGCGTTTGTCAC SEQ ID No. 233: 5'- ACGCCGCGGGTCCTTCCAGA SEQ ID No. 234: 5'- GGTGAACCGTTACTCCACCA SEQ ID No. 235: 5'- GGGTCCTTCCAGAAGTGATA SEQ ID No. 236: 5'- CTTCCAGAAGTGATAGCCGA SEQ ID No. 237: 5'- GCCTTGGTGAACCATTACTC SEQ ID No. 238: 5'- ACAGTTCGCCACTCATCCGA SEQ ID No. 239: 5'- ACCTTCCTCCGCGTTTGTCA SEQ ID No. 240: 5'- CGAACCGACTTTGGGTGTTG SEO ID No. 241: 5'- GAACCGACTTTGGGTGTTGC SEQ ID No. 242: 5'- AGGTTACCGAACCGACTTTG SEQ ID No. 243: 5'- ACCGAACCGACTTTGGGTGT SEQ ID No. 244: 5'- TTACCGAACCGACTTTGGGT SEQ ID No. 245:

SEQ ID No. 246:	5'- TACCGAACCGACTTTGGGTG
SEQ ID No. 247:	5'- GTTACCGAACCGACTTTGGG
SEQ ID No. 248:	5'- AGTTGCAGTCCAGTAAGCCG
SEQ ID No. 249:	5'- GTTGCAGTCCAGTAAGCCGC
SEQ ID No. 250:	5'- CAGTTGCAGTCCAGTAAGCC
SEQ ID No. 251:	5'- TGCAGTCCAGTAAGCCGCCT
SEQ ID No. 252:	5'- TCAGTTGCAGTCCAGTAAGC
SEQ ID No. 253:	5'- TTGCAGTCCAGTAAGCCGCC
SEQ ID No. 254:	5'- GCAGTCCAGTAAGCCGCCTT
SEQ ID No. 255:	5'- GTCAGTTGCAGTCCAGTAAG
SEQ ID No. 256:	5'- CTCTAGGTGACGCCGAAGCG
SEQ ID No. 257:	5'- ATCTCTAGGTGACGCCGAAG
SEQ ID No. 258:	5'- TCTAGGTGACGCCGAAGCGC
SEQ ID No. 259:	5'- TCTCTAGGTGACGCCGAAGC
SEQ ID No. 260:	5'- CCATCTCTAGGTGACGCCGA
SEQ ID No. 261:	5'- CATCTCTAGGTGACGCCGAA
SEQ ID No. 262:	5'- TAGGTGACGCCGAAGCGCCT
SEQ ID No. 263:	5'- CTAGGTGACGCCGAAGCGCC
SEQ ID No. 264:	5'- CTTAGACGGCTCCTTCCTAA
SEQ ID No. 265:	5'- CCTTAGACGGCTCCTTCCTA
SEQ ID No. 266:	5'- ACGTCAGTTGCAGTCCAGTA
SEQ ID No. 267:	5'- CGTCAGTTGCAGTCCAGTAA
SEQ ID No. 268:	5'- ACGCCGAAGCGCCTTTTAAC
SEQ ID No. 269:	5'- GACGCCGAAGCGCCTTTTAA
SEQ ID No. 270:	5'- GCCGAAGCGCCTTTTAACTT
SEQ ID No. 271:	5'- CGCCGAAGCGCCTTTTAACT
SEQ ID No. 272:	5'- GTGACGCCGAAGCGCCTTTT
SEQ ID No. 273:	5'- TGACGCCGAAGCGCCTTTTA

5'- AGACGGCTCCTTCCTAAAAG SEQ ID No. 274: 5'- ACGGCTCCTTCCTAAAAGGT SEQ ID No. 275: 5'- GACGGCTCCTTCCTAAAAGG SEQ ID No. 276: 5'- CCTTCCTAAAAGGTTAGGCC SEQ ID No. 277: 5'- GGTGACGCCAAAGCGCCTTT SEQ ID No. 278: 5'- AGGTGACGCCAAAGCGCCTT SEQ ID No. 279: 5'- TAGGTGACGCCAAAGCGCCT SEQ ID No. 280: 5'- CTCTAGGTGACGCCAAAGCG SEQ ID No. 281: 5'- TCTAGGTGACGCCAAAGCGC SEQ ID No. 282: 5'- CTAGGTGACGCCAAAGCGCC SEQ ID No. 283: 5'- ACGCCAAAGCGCCTTTTAAC SEQ ID No. 284: 5'- CGCCAAAGCGCCTTTTAACT SEQ ID No. 285: 5'- TGACGCCAAAGCGCCTTTTA SEQ ID No. 286: 5'- TCTCTAGGTGACGCCAAAGC SEQ ID No. 287: 5'- GTGACGCCAAAGCGCCTTTT SEQ ID No. 288: 5'- GACGCCAAAGCGCCTTTTAA SEQ ID No. 289: 5'- ATCTCTAGGTGACGCCAAAG SEQ ID No. 290: 5'- CATCTCTAGGTGACGCCAAA SEQ ID No. 291: 5'- TCCATCTCTAGGTGACGCCA SEQ ID No. 292: 5'- CCATCTCTAGGTGACGCCAA SEQ ID No. 293: 5'- CTGCCTTAGACGGCTCCCCC SEQ ID No. 294: 5'- CCTGCCTTAGACGGCTCCCC SEQ ID No. 295: 5'- GTGTCATGCGACACTGAGTT SEQ ID No. 296: 5'- TGTGTCATGCGACACTGAGT SEQ ID No. 297: 5'- CTTTGTGTCATGCGACACTG SEQ ID No. 298: 5'- TTGTGTCATGCGACACTGAG SEQ ID No. 299: 5'- TGCCTTAGACGGCTCCCCCT SEQ ID No. 300: 5'- AGACGGCTCCCCTAAAAGG SEQ ID No. 301:

5'- TAGACGGCTCCCCCTAAAAG SEQ ID No. 302: 5'- GCCTTAGACGGCTCCCCCTA SEQ ID No. 303: 5'- GCTCCCCTAAAAGGTTAGG SEQ ID No. 304: 5'- GGCTCCCCCTAAAAGGTTAG SEQ ID No. 305: 5'- CTCCCCCTAAAAGGTTAGGC SEQ ID No. 306: 5'- TCCCCCTAAAAGGTTAGGCC SEQ ID No. 307: 5'- CCCTAAAAGGTTAGGCCACC **SEQ ID No. 308:** 5'- CCCCTAAAAGGTTAGGCCAC SEQ ID No. 309: 5'- CGGCTCCCCCTAAAAGGTTA SEQ ID No. 310: 5'- CCCCCTAAAAGGTTAGGCCA SEQ ID No. 311: 5'- CTTAGACGGCTCCCCTAAA SEQ ID No. 312: 5'- TTAGACGGCTCCCCTAAAA SEQ ID No. 313: 5'- GGGTTCGCAACTCGTTGTAT SEQ ID No. 314: 5'- CCTTAGACGGCTCCCCTAA SEQ ID No. 315: 5'- ACGGCTCCCCCTAAAAGGTT SEQ ID No. 316: 5'- GACGGCTCCCCCTAAAAGGT **SEQ ID No. 317:** 5'- ACGCCGCAAGACCATCCTCT SEQ ID No. 318: 5'- CTAATACGCCGCAAGACCAT SEQ ID No. 319: 5'- TACGCCGCAAGACCATCCTC SEQ ID No. 320: 5'- GTTACGATCTAGCAAGCCGC SEQ ID No. 321: 5'- AATACGCCGCAAGACCATCC SEQ ID No. 322: 5'- CGCCGCAAGACCATCCTCTA SEQ ID No. 323: 5'- GCTAATACGCCGCAAGACCA SEQ ID No. 324: 5'- ACCATCCTCTAGCGATCCAA SEO ID No. 325: 5'- TAATACGCCGCAAGACCATC SEQ ID No. 326: 5'- AGCCATCCCTTTCTGGTAAG SEQ ID No. 327: 5'- ATACGCCGCAAGACCATCCT SEQ ID No. 328: 5'- AGTTACGATCTAGCAAGCCG SEQ ID No. 329:

SEQ ID No. 330:	5'- AGCTAATACGCCGCAAGACC
SEQ ID No. 331:	5'- GCCGCAAGACCATCCTCTAG
SEQ ID No. 332:	5'- TTACGATCTAGCAAGCCGCT
SEQ ID No. 333:	5'- GACCATCCTCTAGCGATCCA
SEQ ID No. 334:	5'- TTGCTACGTCACTAGGAGGC
SEQ ID No. 335:	5'- ACGTCACTAGGAGGCGGAAA
SEQ ID No. 336:	5'- TTTGCTACGTCACTAGGAGG
SEQ ID No. 337:	5'- GCCATCCCTTTCTGGTAAGG
SEQ ID No. 338:	5'- TACGTCACTAGGAGGCGGAA
SEQ ID No. 339:	5'- CGTCACTAGGAGGCGGAAAC
SEQ ID No. 340:	5'- AAGACCATCCTCTAGCGATC
SEQ ID No. 341:	5'- GCACGTATTTAGCCATCCCT
SEQ ID No. 342:	5'- CTCTAGCGATCCAAAAGGAC
SEQ ID No. 343:	5'- CCTCTAGCGATCCAAAAGGA
SEQ ID No. 344:	5'- CCATCCTCTAGCGATCCAAA
SEQ ID No. 345:	5'- GGCACGTATTTAGCCATCCC
SEQ ID No. 346:	5'- TACGATCTAGCAAGCCGCTT
SEQ ID No. 347:	5'- CAGTTACGATCTAGCAAGCC
SEQ ID No. 348:	5'- CCGCAAGACCATCCTCTAGC
SEQ ID No. 349:	5'- CCATCCCTTTCTGGTAAGGT
SEQ ID No. 350:	5'- AGACCATCCTCTAGCGATCC
SEQ ID No. 351:	5'- CAAGACCATCCTCTAGCGAT
SEQ ID No. 352:	5'- GCTACGTCACTAGGAGGCGG
SEQ ID No. 353:	5'- TGCTACGTCACTAGGAGGCG
SEQ ID No. 354:	5'- CTACGTCACTAGGAGGCGGA
SEQ ID No. 355:	5'- CCTCAACGTCAGTTACGATC
SEQ ID No. 356:	5'- GTCACTAGGAGGCGGAAACC
SEQ ID No. 357:	5'- TCCTCTAGCGATCCAAAAGG

SEQ ID No. 358:	5'- TGGCACGTATTTAGCCATCC
SEQ ID No. 359:	5'- ACGATCTAGCAAGCCGCTTT
SEQ ID No. 360:	5'- GCCAGTCTCTCAACTCGGCT
SEQ ID No. 361:	5'- AAGCTAATACGCCGCAAGAC
SEQ ID No. 362:	5'- GTTTGCTACGTCACTAGGAG
SEQ ID No. 363:	5'- CGCCACTCTAGTCATTGCCT
SEQ ID No. 364:	5'- GGCCAGCCAGTCTCTCAACT
SEQ ID No. 365:	5'- CAGCCAGTCTCTCAACTCGG
SEQ ID No. 366:	5'- CCCGAAGATCAATTCAGCGG
SEQ ID No. 367:	5'- CCGGCCAGTCTCTCAACTCG
SEQ ID No. 368:	5'- CCAGCCAGTCTCTCAACTCG
SEQ ID No. 369:	5'- TCATTGCCTCACTTCACCCG
SEQ ID No. 370:	5'- GCCAGCCAGTCTCTCAACTC
SEQ ID No. 371:	5'- CACCCGAAGATCAATTCAGC
SEQ ID No. 372:	5'- GTCATTGCCTCACTTCACCC
SEQ ID No. 373:	5'- CATTGCCTCACTTCACCCGA
SEQ ID No. 374:	5'- ATTGCCTCACTTCACCCGAA
SEQ ID No. 375:	5'- CGAAGATCAATTCAGCGGCT
SEQ ID No. 376:	5'- AGTCATTGCCTCACTTCACC
SEQ ID No. 377:	5'- TCGCCACTCTAGTCATTGCC
SEQ ID No. 378:	5'- TTGCCTCACTTCACCCGAAG
SEQ ID No. 379:	5'- CGGCCAGTCTCTCAACTCGG
SEQ ID No. 380:	5'- CTGGCACGTATTTAGCCATC
SEQ ID No. 381:	5'- ACCCGAAGATCAATTCAGCG
SEQ ID No. 382:	5'- TCTAGCGATCCAAAAGGACC
SEQ ID No. 383:	5'- CTAGCGATCCAAAAGGACCT
SEQ ID No. 384:	5'- GCACCCATCGTTTACGGTAT
SEQ ID No. 385:	5'- CACCCATCGTTTACGGTATG

5'- GCCACTCTAGTCATTGCCTC SEQ ID No. 386: 5'- CGTTTGCTACGTCACTAGGA SEQ ID No. 387: 5'- GCCTCAACGTCAGTTACGAT SEQ ID No. 388: 5'- GCCGGCCAGTCTCTCAACTC SEQ ID No. 389: 5'- TCACTAGGAGGCGGAAACCT SEQ ID No. 390: 5'- AGCCTCAACGTCAGTTACGA SEQ ID No. 391: SEQ ID No. 392: 5'- AGCCAGTCTCTCAACTCGGC 5'- GGCCAGTCTCTCAACTCGGC SEQ ID No. 393: 5'- CAAGCTAATACGCCGCAAGA SEQ ID No. 394: 5'- TTCGCCACTCTAGTCATTGC SEQ ID No. 395: 5'- CCGAAGATCAATTCAGCGGC SEQ ID No. 396: 5'- CGCAAGACCATCCTCTAGCG SEQ ID No. 397: 5'- GCAAGACCATCCTCTAGCGA SEQ ID No. 398: 5'- GCGTTTGCTACGTCACTAGG SEQ ID No. 399: 5'- CCACTCTAGTCATTGCCTCA SEQ ID No. 400: 5'- CACTCTAGTCATTGCCTCAC SEQ ID No. 401: 5'- CCAGTCTCTCAACTCGGCTA SEQ ID No. 402: 5'- TTACCTTAGGCACCGGCCTC SEQ ID No. 403: SEQ ID No. 404: 5'- ACAAGCTAATACGCCGCAAG 5'- TTTACCTTAGGCACCGGCCT SEQ ID No. 405: 5'- TTTTACCTTAGGCACCGGCC SEQ ID No. 406: 5'- ATTTTACCTTAGGCACCGGC SEQ ID No. 407: SEQ ID No. 408: 5'- GATTTTACCTTAGGCACCGG 5'- CTCACTTCACCCGAAGATCA SEQ ID No. 409: 5'- ACGCCACCAGCGTTCATCCT SEQ ID No. 410: 5'- GCCAAGCGACTTTGGGTACT SEQ ID No. 411: 5'- CGGAAAATTCCCTACTGCAG SEQ ID No. 412: 5'- CGATCTAGCAAGCCGCTTTC SEQ ID No. 413:

SEQ ID No. 414:	5'- GGTACCGTCAAGCTGAAAAC
SEQ ID No. 415:	5'- TGCCTCACTTCACCCGAAGA
SEQ ID No. 416:	5'- GGCCGGCCAGTCTCTCAACT
SEQ ID No. 417:	5'- GGTAAGGTACCGTCAAGCTG
SEQ ID No. 418:	5'- GTAAGGTACCGTCAAGCTGA
SEQ ID No. 419:	5'- AACCCTTCATCACACACG
SEQ ID No. 420:	5'- CGAAACCCTTCATCACAC
SEQ ID No. 421:	5'- ACCCTTCATCACACACGC
SEQ ID No. 422:	5'- TACCGTCACACACTGAAC
SEQ ID No. 423:	5'- AGATACCGTCACACACTG
SEQ ID No. 424:	5'- CACTCAAGGGCGGAAACC
SEQ ID No. 425:	5'- ACCGTCACACACTGAACA
SEQ ID No. 426:	5'- CGTCACACACTGAACAGT
SEQ ID No. 427:	5'- CCGAAACCCTTCATCACA
SEQ ID No. 428:	5'- CCGTCACACACTGAACAG
SEQ ID No. 429:	5'- GATACCGTCACACACTGA
SEQ ID No. 430:	5'- GGTAAGATACCGTCACAC
SEQ ID No. 431:	5'- CCCTTCATCACACACGCG
SEQ ID No. 432:	5'- ACAGTGTTTTACGAGCCG
SEQ ID No. 433:	5'- CAGTGTTTTACGAGCCGA
SEQ ID No. 434:	5'- ACAAAGCGTTCGACTTGC
SEQ ID No. 435:	5'- CGGATAACGCTTGGAACA
SEQ ID No. 436:	5'- AGGGCGGAAACCCTCGAA
SEQ ID No. 437:	5'- GGGCGGAAACCCTCGAAC
SEQ ID No. 438:	5'- GGCGGAAACCCTCGAACA
SEQ ID No. 439:	5'- TGAGGGCTTTCACTTCAG
SEQ ID No. 440:	5'- AGGGCTTTCACTTCAGAC
SEQ ID No. 441:	5'- GAGGGCTTTCACTTCAGA

5'- ACTGCACTCAAGTCATCC SEQ ID No. 442: 5'- CCGGATAACGCTTGGAAC SEQ ID No. 443: 5'- TCCGGATAACGCTTGGAA SEQ ID No. 444: 5'- TATCCCCTGCTAAGAGGT SEQ ID No. 445: 5'- CCTGCTAAGAGGTAGGTT SEQ ID No. 446: 5'- CCCTGCTAAGAGGTAGGT SEQ ID No. 447: 5'- CCCCTGCTAAGAGGTAGG SEQ ID No. 448: SEQ ID No. 449: 5'- TCCCCTGCTAAGAGGTAG 5'- ATCCCCTGCTAAGAGGTA SEQ ID No. 450: 5'- CCGTTCCTTTCTGGTAAG SEQ ID No. 451: 5'- GCCGTTCCTTTCTGGTAA SEQ ID No. 452: 5'- AGCCGTTCCTTTCTGGTA SEQ ID No. 453: 5'- GCACGTATTTAGCCGTTC SEQ ID No. 454: 5'- CACGTATTTAGCCGTTCC SEQ ID No. 455: 5'- GGCACGTATTTAGCCGTT SEQ ID No. 456: 5'- CACTTTCCTCTACTGCAC SEQ ID No. 457: 5'- CCACTTTCCTCTACTGCA SEQ ID No. 458: 5'- TCCACTTTCCTCTACTGC SEQ ID No. 459: 5'- CTTTCCTCTACTGCACTC SEQ ID No. 460: 5'- TAGCCGTTCCTTTCTGGT SEQ ID No. 461: 5'- TTAGCCGTTCCTTTCTGG SEQ ID No. 462: 5'- TTATCCCCTGCTAAGAGG SEQ ID No. 463: 5'- GTTATCCCCTGCTAAGAG SEQ ID No. 464: 5'- CCCGTTCGCCACTCTTTG SEQ ID No. 465: 5'- AGCTGAGGGCTTTCACTT SEQ ID No. 466: 5'- GAGCTGAGGGCTTTCACT SEQ ID No. 467: 5'- GCTGAGGGCTTTCACTTC SEQ ID No. 468: 5'- CTGAGGGCTTTCACTTCA SEQ ID No. 469:

SEQ ID No. 470:	5' CCCGTGTCCCGAAGGAAC
SEQ ID No. 471:	5' GCACGAGTATGTCAAGAC
SEQ.ID No. 472:	5' GTATCCCGTGTCCCGAAG
SEQ ID No. 473:	5' TCCCGTGTCCCGAAGGAA
SEQ ID No. 474:	5' ATCCCGTGTCCCGAAGGA
SEQ ID No. 475:	5' TATCCCGTGTCCCGAAGG
SEQ ID No. 476:	5' CTTACCTTAGGAAGCGCC
SEQ ID No. 477:	5' TTACCTTAGGAAGCGCCC
SEQ ID No. 478:	5' CCTGTATCCCGTGTCCCG
SEQ ID No. 479:	5' CCACCTGTATCCCGTGTC
SEQ ID No. 480:	5' CACCTGTATCCCGTGTCC
SEQ ID No. 481:	5' ACCTGTATCCCGTGTCCC
SEQ ID No. 482:	5' CTGTATCCCGTGTCCCGA
SEQ ID No. 483:	5' TGTATCCCGTGTCCCGAA
SEQ ID No. 484:	5' CACGAGTATGTCAAGACC
SEQ ID No. 485:	5' CGGTCTTACCTTAGGAAG
SEQ ID No. 486:	5' TAGGAAGCGCCCTCCTTG
SEQ ID No. 487:	5' AGGAAGCGCCCTCCTTGC
SEQ ID No. 488:	5' TTAGGAAGCGCCCTCCTT
SEQ ID No. 489:	5' CTTAGGAAGCGCCCTCCT
SEQ ID No. 490:	5' CCTTAGGAAGCGCCCTCC
SEQ ID No. 491:	5' ACCTTAGGAAGCGCCCTC
SEQ ID No. 492:	5' TGCACACAATGGTTGAGC
SEQ ID No. 493:	5' TACCTTAGGAAGCGCCCT
SEQ ID No. 494:	5' ACCACCTGTATCCCGTGT
SEQ ID No. 495:	5' GCACCACCTGTATCCCGT
SEQ ID No. 496:	5' CACCACCTGTATCCCGTG
SEQ ID No. 497:	5' GCGGTTAGGCAACCTACT

5' TGCGGTTAGGCAACCTAC SEQ ID No. 498: 5' TTGCGGTTAGGCAACCTA SEQ ID No. 499: 5' GGTCTTACCTTAGGAAGC SEQ ID No. 500: 5' GCTAATACAACGCGGGAT SEQ ID No. 501: 5' CTAATACAACGCGGGATC SEQ ID No. 502: 5' ATACAACGCGGGATCATC SEQ ID No. 503: 5' CGGTTAGGCAACCTACTT SEQ ID No. 504: 5' TGCACCACCTGTATCCCG SEQ ID No. 505: 5' GAAGCGCCCTCCTTGCGG SEQ ID No. 506: 5' GGAAGCGCCCTCCTTGCG **SEQ ID No. 507:** 5' CGTCCCTTTCTGGTTAGA SEQ ID No. 508: 5' AGCTAATACAACGCGGGA SEQ ID No. 509: 5' TAGCTAATACAACGCGGG SEQ ID No. 510: 5' CTAGCTAATACAACGCGG SEQ ID No. 511: 5' GGCTATGTATCATCGCCT SEQ ID No. 512: 5' GAGCCACTGCCTTTTACA SEQ ID No. 513: 5' GTCGGCTATGTATCATCG SEQ ID No. 514: 5' GGTCGGCTATGTATCATC SEQ ID No. 515: 5' CAGGTCGGCTATGTATCA SEQ ID No. 516: 5' CGGCTATGTATCATCGCC SEQ ID No. 517: 5' TCGGCTATGTATCATCGC SEQ ID No. 518: 5' GTCTTACCTTAGGAAGCG SEQ ID No. 519: 5' TCTTACCTTAGGAAGCGC SEQ ID No. 520: 5'- GTACAAACCGCCTACACGCC SEQ ID No. 521: 5'- TGTACAAACCGCCTACACGC SEQ ID No. 522: 5'- GATCAGCACGATGTCGCCAT SEQ ID No. 523: 5'- CTGTACAAACCGCCTACACG SEQ ID No. 524: 5'- GAGATCAGCACGATGTCGCC SEQ ID No. 525:

SEQ ID No. 526:	5'- AGATCAGCACGATGTCGCCA
SEQ ID No. 527:	5'- ATCAGCACGATGTCGCCATC
SEQ ID No. 528:	5'- TCAGCACGATGTCGCCATCT
SEQ ID No. 529:	5'- ACTGTACAAACCGCCTACAC
SEQ ID No. 530:	5'- CCGCCACTAAGGCCGAAACC
SEQ ID No. 531:	5'- CAGCACGATGTCGCCATCTA
SEQ ID No. 532:	5'- TACAAACCGCCTACACGCCC
SEQ ID No. 533:	5'- AGCACGATGTCGCCATCTAG
SEQ ID No. 534:	5'- CGGCTTTTAGAGATCAGCAC
SEQ ID No. 535:	5'- TCCGCCACTAAGGCCGAAAC
SEQ ID No. 536:	5'- GACTGTACAAACCGCCTACA
SEQ ID No. 537:	5'- GTCCGCCACTAAGGCCGAAA
SEQ ID No. 538:	5'- GGGGATTTCACATCTGACTG
SEQ ID No. 539:	5'- CATACAAGCCCTGGTAAGGT
SEQ ID No. 540:	5'- ACAAGCCCTGGTAAGGTTCT
SEQ ID No. 541:	5'- ACAAACCGCCTACACGCCCT
SEQ ID No. 542:	5'- CTGACTGTACAAACCGCCTA
SEQ ID No. 543:	5'- TGACTGTACAAACCGCCTAC
SEQ ID No. 544:	5'- ACGATGTCGCCATCTAGCTT
SEQ ID No. 545:	5'- CACGATGTCGCCATCTAGCT
SEQ ID No. 546:	5'- CGATGTCGCCATCTAGCTTC
SEQ ID No. 547:	5'- GCACGATGTCGCCATCTAGC
SEQ ID No. 548:	5'- GATGTCGCCATCTAGCTTCC
SEQ ID No. 549:	5'- ATGTCGCCATCTAGCTTCCC
SEQ ID No. 550:	5'- TGTCGCCATCTAGCTTCCCA
SEQ ID No. 551:	5'- GCCATCTAGCTTCCCACTGT
SEQ ID No. 552:	5'- TCGCCATCTAGCTTCCCACT
SEQ ID No. 553:	5'- CGCCATCTAGCTTCCCACTG

5'- GTCGCCATCTAGCTTCCCAC SEQ ID No. 554: 5'- TACAAGCCCTGGTAAGGTTC SEQ ID No. 555: 5'- GCCACTAAGGCCGAAACCTT SEQ ID No. 556: 5'- ACTAAGGCCGAAACCTTCGT SEQ ID No. 557: 5'- CTAAGGCCGAAACCTTCGTG SEQ ID No. 558: 5'- CACTAAGGCCGAAACCTTCG SEQ ID No. 559: 5'- AAGGCCGAAACCTTCGTGCG SEQ ID No. 560: 5'- CCACTAAGGCCGAAACCTTC SEQ ID No. 561: 5'- TAAGGCCGAAACCTTCGTGC SEQ ID No. 562: 5'- AGGCCGAAACCTTCGTGCGA SEQ ID No. 563: 5'- TCTGACTGTACAAACCGCCT SEQ ID No. 564: 5'- CATCTGACTGTACAAACCGC SEQ ID No. 565: 5'- ATCTGACTGTACAAACCGCC SEQ ID No. 566: 5'- CTTCGTGCGACTTGCATGTG SEQ ID No. 567: 5'- CCTTCGTGCGACTTGCATGT SEQ ID No. 568: 5'- CTCTCTAGAGTGCCCACCCA SEQ ID No. 569: 5'- TCTCTAGAGTGCCCACCCAA SEQ ID No. 570: 5'- ACGTATCAAATGCAGCTCCC SEQ ID No. 571: 5'- CGTATCAAATGCAGCTCCCA SEQ ID No. 572: 5'- CGCCACTAAGGCCGAAACCT SEQ ID No. 573: 5'- CCGAAACCTTCGTGCGACTT SEQ ID No. 574: 5'- GCCGAAACCTTCGTGCGACT SEQ ID No. 575: 5'- AACCTTCGTGCGACTTGCAT SEQ ID No. 576: 5'- CGAAACCTTCGTGCGACTTG **SEQ ID No. 577:** 5'- ACCTTCGTGCGACTTGCATG SEQ ID No. 578: 5'- GAAACCTTCGTGCGACTTGC SEQ ID No. 579: 5'- GGCCGAAACCTTCGTGCGAC SEQ ID No. 580: 5'- AAACCTTCGTGCGACTTGCA SEQ ID No. 581:

5'- CACGTATCAAATGCAGCTCC SEQ ID No. 582: 5'- GCTCACCGGCTTAAGGTCAA SEQ ID No. 583: 5'- CGCTCACCGGCTTAAGGTCA SEQ ID No. 584: 5'- TCGCTCACCGGCTTAAGGTC SEQ ID No. 585: 5'- CTCACCGGCTTAAGGTCAAA SEQ ID No. 586: 5'- CCCGACCGTGGTCGGCTGCG SEQ ID No. 587: 5'- GCTCACCGGCTTAAGGTCAA SEQ ID No. 588: 5'- CGCTCACCGGCTTAAGGTCA SEQ ID No. 589: 5'- TCGCTCACCGGCTTAAGGTC SEQ ID No. 590: 5'- CTCACCGGCTTAAGGTCAAA SEQ ID No. 591: 5'- CCCGACCGTGGTCGGCTGCG SEQ ID No. 592: 5'- TCACCGGCTTAAGGTCAAAC SEQ ID No. 593: 5'- CAACCCTCTCTCACACTCTA SEQ ID No. 594: 5'- ACAACCCTCTCTCACACTCT SEQ ID No. 595: 5'- CCACAACCCTCTCTCACACT SEQ ID No. 596: 5'- AACCCTCTCTCACACTCTAG SEQ ID No. 597: 5'- CACAACCCTCTCTCACACTC SEQ ID No. 598: 5'- TCCACAACCCTCTCACAC SEQ ID No. 599: 5'- TTCCACAACCCTCTCACA SEQ ID No. 600: 5'- ACCCTCTCTCACACTCTAGT SEQ ID No. 601: 5'- GAGCCAGGTTGCCGCCTTCG SEQ ID No. 602: 5'- AGGTCAAACCAACTCCCATG SEQ ID No. 603: 5'- ATGAGCCAGGTTGCCGCCTT SEQ ID No. 604: 5'- TGAGCCAGGTTGCCGCCTTC SEQ ID No. 605: 5'- AGGCTCCTCCACAGGCGACT SEQ ID No. 606: 5'- CAGGCTCCTCCACAGGCGAC SEQ ID No. 607: 5'- GCAGGCTCCTCCACAGGCGA SEQ ID No. 608: 5'- TTCGCTCACCGGCTTAAGGT SEQ ID No. 609:

SEQ ID No. 610:	5'- GTTCGCTCACCGGCTTAAGG
SEQ ID No. 611:	5'- GGTTCGCTCACCGGCTTAAG
SEQ ID No. 612:	5'- ATTCCACAACCCTCTCTCAC
SEQ ID No. 613:	5'- TGACCCGACCGTGGTCGGCT
SEQ ID No. 614:	5'- CCCTCTCTCACACTCTAGTC
SEQ ID No. 615:	5'- GAATTCCACAACCCTCTCTC
SEQ ID No. 616:	5'- AGCCAGGTTGCCGCCTTCGC
SEQ ID No. 617:	5'- GCCAGGTTGCCGCCTTCGCC
SEQ ID No. 618:	5'- GGAATTCCACAACCCTCTCT
SEQ ID No. 619:	5'- GGGAATTCCACAACCCTCTC
SEQ ID No. 620:	5'- AACGCAGGCTCCTCCACAGG
SEQ ID No. 621:	5'- CGGCTTAAGGTCAAACCAAC
SEQ ID No. 622:	5'- CCGGCTTAAGGTCAAACCAA
SEQ ID No. 623:	5'- CACCGGCTTAAGGTCAAACC
SEQ ID No. 624:	5'- ACCGGCTTAAGGTCAAACCA
SEQ ID No. 625:	5'- ACCCAACATCCAGCACACAT
SEQ ID No. 626:	5'- TCGCTGACCCGACCGTGGTC
SEQ ID No. 627:	5'- CGCTGACCCGACCGTGGTCG
SEQ ID No. 628:	5'- GACCCGACCGTGGTCGGCTG
SEQ ID No. 629:	5'- GCTGACCCGACCGTGGTCGG
SEQ ID No. 630:	5'- CTGACCCGACCGTGGTCGGC
SEQ ID No. 631:	5'- CAGGCGACTTGCGCCTTTGA
SEQ ID No. 632:	5'- TCATGCGGTATTAGCTCCAG
SEQ ID No. 633:	5'- ACTAGCTAATCGAACGCAGG
SEQ ID No. 634:	5'- CATGCGGTATTAGCTCCAGT
SEQ ID No. 635:	5'- CGCAGGCTCCTCCACAGGCG
SEQ ID No. 636:	5'- ACGCAGGCTCCTCCACAGGC
SEQ ID No. 637:	5'- CTCAGGTGTCATGCGGTATT

SEQ ID No. 638:	5'- CGCCTTTGACCCTCAGGTGT
SEQ ID No. 639:	5'- ACCCTCAGGTGTCATGCGGT
SEQ ID No. 640:	5'- CCTCAGGTGTCATGCGGTAT
SEQ ID No. 641:	5'- TTTGACCCTCAGGTGTCATG
SEQ ID No. 642:	5'- GACCCTCAGGTGTCATGCGG
SEQ ID No. 643:	5'- TGACCCTCAGGTGTCATGCG
SEQ ID No. 644:	5'- GCCTTTGACCCTCAGGTGTC
SEQ ID No. 645:	5'- TTGACCCTCAGGTGTCATGC
SEQ ID No. 646:	5'- CCCTCAGGTGTCATGCGGTA
SEQ ID No. 647:	5'- CCTTTGACCCTCAGGTGTCA
SEQ ID No. 648:	5'- CTTTGACCCTCAGGTGTCAT
SEQ ID No. 649:	5'- AGTTATCCCCCACCCATGGA
SEQ ID No. 650:	5'- CCAGCTATCGATCATCGCCT
SEQ ID No. 651:	5'- ACCAGCTATCGATCATCGCC
SEQ ID No. 652:	5'- CAGCTATCGATCATCGCCTT
SEQ ID No. 653:	5'- AGCTATCGATCATCGCCTTG
SEQ ID No. 654:	5'- GCTATCGATCATCGCCTTGG
SEQ ID No. 655:	5'- CTATCGATCATCGCCTTGGT
SEQ ID No. 656:	5'- TTCGTGCGACTTGCATGTGT
SEQ ID No. 657:	5'- TCGATCATCGCCTTGGTAGG
SEQ ID No. 658:	5'- ATCGATCATCGCCTTGGTAG
SEQ ID No. 659:	5'- CACAGGCGACTTGCGCCTTT
SEQ ID No. 660:	5'- CCACAGGCGACTTGCGCCTT
SEQ ID No. 661:	5'- TCCACAGGCGACTTGCGCCT
SEQ ID No. 662:	5'- TCCTCCACAGGCGACTTGCG
SEQ ID No. 663:	5'- CCTCCACAGGCGACTTGCGC
SEQ ID No. 664:	5'- CTCCACAGGCGACTTGCGCC
SEQ ID No. 665:	5'- ACAGGCGACTTGCGCCTTTG

5'- GCTCACCGGCTTAAGGTCAA SEQ ID No. 666: 5'- CGCTCACCGGCTTAAGGTCA SEQ ID No. 667: 5'- TCGCTCACCGGCTTAAGGTC SEQ ID No. 668: 5'- CTCACCGGCTTAAGGTCAAA SEQ ID No. 669: 5'- CCCGACCGTGGTCGGCTGCG SEQ ID No. 670: 5'- TCACCGGCTTAAGGTCAAAC SEQ ID No. 671: 5'- CAACCCTCTCTCACACTCTA SEQ ID No. 672: 5'- ACAACCCTCTCTCACACTCT SEQ ID No. 673: 5'- CCACAACCCTCTCTCACACT SEQ ID No. 674: 5'- AACCCTCTCTCACACTCTAG SEQ ID No. 675: 5'- CACAACCCTCTCTCACACTC SEQ ID No. 676: 5'- TCCACAACCCTCTCTCACAC SEQ ID No. 677: 5'- TTCCACAACCCTCTCTCACA SEQ ID No. 678: 5'- ACCCTCTCTCACACTCTAGT SEQ ID No. 679: 5'- GAGCCAGGTTGCCGCCTTCG SEQ ID No. 680: 5'- AGGTCAAACCAACTCCCATG SEQ ID No. 681: 5'- ATGAGCCAGGTTGCCGCCTT SEQ ID No. 682: 5'- TGAGCCAGGTTGCCGCCTTC SEQ ID No. 683: 5'- AGGCTCCTCCACAGGCGACT SEQ ID No. 684: 5'- CAGGCTCCTCCACAGGCGAC SEQ ID No. 685: 5'- GCAGGCTCCTCCACAGGCGA SEQ ID No. 686: 5'- TTCGCTCACCGGCTTAAGGT SEQ ID No. 687: 5'- GTTCGCTCACCGGCTTAAGG SEQ ID No. 688: 5'- GGTTCGCTCACCGGCTTAAG SEQ ID No. 689: 5'- ATTCCACAACCCTCTCTCAC SEQ ID No. 690: 5'- TGACCCGACCGTGGTCGGCT SEQ ID No. 691: 5'- CCCTCTCTCACACTCTAGTC SEQ ID No. 692: 5'- GAATTCCACAACCCTCTCTC SEQ ID No. 693:

5'- AGCCAGGTTGCCGCCTTCGC SEQ ID No. 694: 5'- GCCAGGTTGCCGCCTTCGCC SEQ ID No. 695: 5'- GGAATTCCACAACCCTCTCT SEQ ID No. 696: 5'- GGGAATTCCACAACCCTCTC SEQ ID No. 697: 5'- AACGCAGGCTCCTCCACAGG SEQ ID No. 698: 5'- CGGCTTAAGGTCAAACCAAC SEQ ID No. 699: 5'- CCGGCTTAAGGTCAAACCAA SEQ ID No. 700: 5'- CACCGGCTTAAGGTCAAACC SEQ ID No. 701: 5'- ACCGGCTTAAGGTCAAACCA SEQ ID No. 702: 5'- ACCCAACATCCAGCACACAT SEQ ID No. 703: 5'- TCGCTGACCCGACCGTGGTC SEQ ID No. 704: 5'- CGCTGACCCGACCGTGGTCG SEQ ID No. 705: 5'- GACCCGACCGTGGTCGGCTG SEQ ID No. 706: 5'- GCTGACCCGACCGTGGTCGG SEQ ID No. 707: 5'- CTGACCCGACCGTGGTCGGC SEQ ID No. 708: 5'- CAGGCGACTTGCGCCTTTGA SEQ ID No. 709: 5'- TCATGCGGTATTAGCTCCAG SEQ ID No. 710: 5'- ACTAGCTAATCGAACGCAGG SEQ ID No. 711: 5'- CATGCGGTATTAGCTCCAGT SEQ ID No. 712: 5'- CGCAGGCTCCTCCACAGGCG SEQ ID No. 713: 5'- ACGCAGGCTCCTCCACAGGC SEQ ID No. 714: 5'- CTCAGGTGTCATGCGGTATT SEQ ID No. 715: 5'- CGCCTTTGACCCTCAGGTGT SEQ ID No. 716: 5'- ACCCTCAGGTGTCATGCGGT SEQ ID No. 717: 5'- CCTCAGGTGTCATGCGGTAT SEQ ID No. 718: 5'- TTTGACCCTCAGGTGTCATG SEQ ID No. 719: 5'- GACCCTCAGGTGTCATGCGG SEQ ID No. 720: 5'- TGACCCTCAGGTGTCATGCG SEQ ID No. 721:

SEQ ID No. 722:	5'- GCCTTTGACCCTCAGGTGTC
SEQ ID No. 723:	5'- TTGACCCTCAGGTGTCATGC
SEQ ID No. 724:	5'- CCCTCAGGTGTCATGCGGTA
SEQ ID No. 725:	5'- CCTTTGACCCTCAGGTGTCA
SEQ ID No. 726:	5'- CTTTGACCCTCAGGTGTCAT
SEQ ID No. 727:	5'- AGTTATCCCCCACCCATGGA
SEQ ID No. 728:	5'- CCAGCTATCGATCATCGCCT
SEQ ID No. 729:	5'- ACCAGCTATCGATCATCGCC
SEQ ID No. 730:	5'- CAGCTATCGATCATCGCCTT
SEQ ID No. 731:	5'- AGCTATCGATCATCGCCTTG
SEQ ID No. 732:	5'- GCTATCGATCATCGCCTTGG
SEQ ID No. 733:	5'- CTATCGATCATCGCCTTGGT
SEQ ID No. 734:	5'- TTCGTGCGACTTGCATGTGT
SEQ ID No. 735:	5'- TCGATCATCGCCTTGGTAGG
SEQ ID No. 736:	5'- ATCGATCATCGCCTTGGTAG
SEQ ID No. 737:	5'- CACAGGCGACTTGCGCCTTT
SEQ ID No. 738:	5'- CCACAGGCGACTTGCGCCTT
SEQ ID No. 739:	5'- TCCACAGGCGACTTGCGCCT
SEQ ID No. 740:	5'- TCCTCCACAGGCGACTTGCG
SEQ ID No. 741:	5'- CCTCCACAGGCGACTTGCGC
SEQ ID No. 742:	5'- CTCCACAGGCGACTTGCGCC
SEQ ID No. 743:	5'- ACAGGCGACTTGCGCCTTTG
SEQ ID No. 744:	5'- TCACCGGCTTAAGGTCAAAC
SEQ ID No. 745:	5'- CAACCCTCTCTCACACTCTA
SEQ ID No. 746:	5'- ACAACCCTCTCTCACACTCT
SEQ ID No. 747:	5'- CCACAACCCTCTCTCACACT
SEQ ID No. 748:	5'- AACCCTCTCTCACACTCTAG
SEQ ID No. 749:	5'- CACAACCCTCTCTCACACTC

5'- TCCACAACCCTCTCTCACAC SEQ ID No. 750: 5'- TTCCACAACCCTCTCTCACA SEQ ID No. 751: 5'- ACCCTCTCTCACACTCTAGT SEQ ID No. 752: 5'- GAGCCAGGTTGCCGCCTTCG SEQ ID No. 753: 5'- AGGTCAAACCAACTCCCATG SEQ ID No. 754: 5'- ATGAGCCAGGTTGCCGCCTT SEQ ID No. 755: 5'- TGAGCCAGGTTGCCGCCTTC SEQ ID No. 756: 5'- AGGCTCCTCCACAGGCGACT SEQ ID No. 757: 5'- CAGGCTCCTCCACAGGCGAC SEQ ID No. 758: 5'- GCAGGCTCCTCCACAGGCGA SEQ ID No. 759: 5'- TTCGCTCACCGGCTTAAGGT SEQ ID No. 760: 5'- GTTCGCTCACCGGCTTAAGG SEQ ID No. 761: 5'- GGTTCGCTCACCGGCTTAAG SEQ ID No. 762: 5'- ATTCCACAACCCTCTCTCAC SEQ ID No. 763: 5'- TGACCCGACCGTGGTCGGCT SEQ ID No. 764: 5'- CCCTCTCTCACACTCTAGTC SEQ ID No. 765: 5'- GAATTCCACAACCCTCTCTC SEQ ID No. 766: 5'- AGCCAGGTTGCCGCCTTCGC SEQ ID No. 767: 5'- GCCAGGTTGCCGCCTTCGCC SEQ ID No. 768: 5'- GGAATTCCACAACCCTCTCT SEQ ID No. 769: 5'- GGGAATTCCACAACCCTCTC SEQ ID No. 770: 5'- AACGCAGGCTCCTCCACAGG SEQ ID No. 771: 5'- CGGCTTAAGGTCAAACCAAC SEQ ID No. 772: 5'- CCGGCTTAAGGTCAAACCAA SEQ ID No. 773: 5'- CACCGGCTTAAGGTCAAACC SEQ ID No. 774: 5'- ACCGGCTTAAGGTCAAACCA SEQ ID No. 775: 5'- ACCCAACATCCAGCACACAT SEQ ID No. 776: 5'- TCGCTGACCCGACCGTGGTC SEQ ID No. 777:

5'- CGCTGACCCGACCGTGGTCG SEQ ID No. 778: 5'- GACCCGACCGTGGTCGGCTG SEQ ID No. 779: 5'- GCTGACCCGACCGTGGTCGG SEQ ID No. 780: 5'- CTGACCCGACCGTGGTCGGC SEQ ID No. 781: 5'- CAGGCGACTTGCGCCTTTGA SEQ ID No. 782: 5'- TCATGCGGTATTAGCTCCAG SEQ ID No. 783: 5'- ACTAGCTAATCGAACGCAGG SEQ ID No. 784: 5'- CATGCGGTATTAGCTCCAGT SEQ ID No. 785: 5'- CGCAGGCTCCTCCACAGGCG SEQ ID No. 786: 5'- ACGCAGGCTCCTCCACAGGC SEQ ID No. 787: 5'- CTCAGGTGTCATGCGGTATT SEQ ID No. 788: 5'- CGCCTTTGACCCTCAGGTGT SEQ ID No. 789: 5'- ACCCTCAGGTGTCATGCGGT SEQ ID No. 790: 5'- CCTCAGGTGTCATGCGGTAT SEQ ID No. 791: 5'- TTTGACCCTCAGGTGTCATG SEQ ID No. 792: 5'- GACCCTCAGGTGTCATGCGG SEQ ID No. 793: 5'- TGACCCTCAGGTGTCATGCG SEQ ID No. 794: 5'- GCCTTTGACCCTCAGGTGTC SEQ ID No. 795: 5'- TTGACCCTCAGGTGTCATGC SEQ ID No. 796: 5'- CCCTCAGGTGTCATGCGGTA SEQ ID No. 797: 5'- CCTTTGACCCTCAGGTGTCA SEQ ID No. 798: 5'- CTTTGACCCTCAGGTGTCAT SEQ ID No. 799: 5'- AGTTATCCCCCACCCATGGA SEQ ID No. 800: 5'- CCAGCTATCGATCATCGCCT SEQ ID No. 801: 5'- ACCAGCTATCGATCATCGCC SEQ ID No. 802: 5'- CAGCTATCGATCATCGCCTT SEQ ID No. 803: 5'- AGCTATCGATCATCGCCTTG SEQ ID No. 804: 5'- GCTATCGATCATCGCCTTGG SEQ ID No. 805:

SEQ ID No. 806:	5'- CTATCGATCATCGCCTTGGT
SEQ ID No. 807:	5'- TTCGTGCGACTTGCATGTGT
SEQ ID No. 808:	5'- TCGATCATCGCCTTGGTAGG
SEQ ID No. 809:	5'- ATCGATCATCGCCTTGGTAG
SEQ ID No. 810:	5'- CACAGGCGACTTGCGCCTTT
SEQ ID No. 811:	5'- CCACAGGCGACTTGCGCCTT
SEQ ID No. 812:	5'- TCCACAGGCGACTTGCGCCT
SEQ ID No. 813:	5'- TCCTCCACAGGCGACTTGCG
SEQ ID No. 814:	5'- CCTCCACAGGCGACTTGCGC
SEQ ID No. 815:	5'- CTCCACAGGCGACTTGCGCC
SEQ ID No. 816:	5'- ACAGGCGACTTGCGCCTTTG
SEQ ID No. 817:	5'- AGCCCCGGTTTCCCGGCGTT
SEQ ID No. 818:	5'- CGCCTTTCCTTTTCCTCCA
SEQ ID No. 819:	5'- GCCCCGGTTTCCCGGCGTTA
SEQ ID No. 820:	5'- GCCGCCTTTCCTTTTCCTC
SEQ ID No. 821:	5'- TAGCCCCGGTTTCCCGGCGT
SEQ ID No. 822:	5'- CCGGGTACCGTCAAGGCGCC
SEQ ID No. 823:	5'- AAGCCGCCTTTCCTTTTCC
SEQ ID No. 824:	5'- CCCCGGTTTCCCGGCGTTAT
SEQ ID No. 825:	5'- CCGGCGTTATCCCAGTCTTA
SEQ ID No. 826:	5'- AGCCGCCTTTCCTTTTCCT
SEQ ID No. 827:	5'- CCGCCTTTCCTTTTTCCTCC
SEQ ID No. 828:	5'- TTAGCCCCGGTTTCCCGGCG
SEQ ID No. 829:	5'- CCCGGCGTTATCCCAGTCTT
SEQ ID No. 830:	5'- GCCGGGTACCGTCAAGGCGC
SEQ ID No. 831:	5'- GGCCGGGTACCGTCAAGGCG
SEQ ID No. 832:	5'- TCCCGGCGTTATCCCAGTCT
SEQ ID No. 833:	5'- TGGCCGGGTACCGTCAAGGC

SEQ ID No. 834:	5'- GAAGCCGCCTTTCCTTTTC
SEQ ID No. 835:	5'- CCCGGTTTCCCGGCGTTATC
SEQ ID No. 836:	5'- CGGCGTTATCCCAGTCTTAC
SEQ ID No. 837:	5'- GGCGTTATCCCAGTCTTACA
SEQ ID No. 838:	5'- GCGTTATCCCAGTCTTACAG
SEQ ID No. 839:	5'- CGGGTACCGTCAAGGCGCCG
SEQ ID No. 840:	5'- ATTAGCCCCGGTTTCCCGGC
SEQ ID No. 841:	5'- AAGGGGAAGGCCCTGTCTCC
SEQ ID No. 842:	5'- GGCCCTGTCTCCAGGGAGGT
SEQ ID No. 843:	5'- AGGCCCTGTCTCCAGGGAGG
SEQ ID No. 844:	5'- AAGGCCCTGTCTCCAGGGAG
SEQ ID No. 845:	5'- GCCCTGTCTCCAGGGAGGTC
SEQ ID No. 846:	5'- CGTTATCCCAGTCTTACAGG
SEQ ID No. 847:	5'- GGGTACCGTCAAGGCGCCGC
SEQ ID No. 848:	5'- CGGCAACAGAGTTTTACGAC
SEQ ID No. 849:	5'- GGGGAAGGCCCTGTCTCCAG
SEQ ID No. 850:	5'- AGGGGAAGGCCCTGTCTCCA
SEQ ID No. 851:	5'- GCAGCCGAAGCCGCCTTTCC
SEQ ID No. 852:	5'- TTCTTCCCCGGCAACAGAGT
SEQ ID No. 853:	5'- CGGCACTTGTTCTTCCCCGG
SEQ ID No. 854:	5'- GTTCTTCCCCGGCAACAGAG
SEQ ID No. 855:	5'- GGCACTTGTTCTTCCCCGGC
SEQ ID No. 856:	5'- GCACTTGTTCTTCCCCGGCA
SEQ ID No. 857:	5'- CACTTGTTCTTCCCCGGCAA
SEQ ID No. 858:	5'- TCTTCCCCGGCAACAGAGTT
SEQ ID No. 859:	5'- TTGTTCTTCCCCGGCAACAG
SEQ ID No. 860:	5'- ACTTGTTCTTCCCCGGCAAC
SEQ ID No. 861:	5'- TGTTCTTCCCCGGCAACAGA

SEQ ID No. 862:	5'- CTTGTTCTTCCCCGGCAACA
SEQ ID No. 863:	5'- ACGGCACTTGTTCTTCCCCG
SEQ ID No. 864:	5'- GTCCGCCGCTAACCTTTTAA
SEQ ID No. 865:	5'- CTGGCCGGGTACCGTCAAGG
SEQ ID No. 866:	5'- TCTGGCCGGGTACCGTCAAG
SEQ ID No. 867:	5'- TTCTGGCCGGGTACCGTCAA
SEQ ID No. 868:	5'- CAATGCTGGCAACTAAGGTC
SEQ ID No. 869:	5'- CGTCCGCCGCTAACCTTTTA
SEQ ID No. 870:	5'- CGAAGCCGCCTTTCCTTTTT
SEQ ID No. 871:	5'- CCGAAGCCGCCTTTCCTTTT
SEQ ID No. 872:	5'- GCCGAAGCCGCCTTTCCTTT
SEQ ID No. 873:	5'- AGCCGAAGCCGCCTTTCCTT
SEQ ID No. 874:	5'- ACCGTCAAGGCGCCGCCCTG
SEQ ID No. 875:	5'- CCGTGGCTTTCTGGCCGGGT
SEQ ID No. 876:	5'- GCTTTCTGGCCGGGTACCGT
SEQ ID No. 877:	5'- GCCGTGGCTTTCTGGCCGGG
SEQ ID No. 878:	5'- GGCTTTCTGGCCGGGTACCG
SEQ ID No. 879:	5'- CTTTCTGGCCGGGTACCGTC
SEQ ID No. 880:	5'- TGGCTTTCTGGCCGGGTACC
SEQ ID No. 881:	5'- GTGGCTTTCTGGCCGGGTAC
SEQ ID No. 882:	5'- CGTGGCTTTCTGGCCGGGTA
SEQ ID No. 883:	5'- TTTCTGGCCGGGTACCGTCA
SEQ ID No. 884:	5'- GGGAAGGCCCTGTCTCCAGG
SEQ ID No. 885:	5'- CGAAGGGGAAGGCCCTGTCT
SEQ ID No. 886:	5'- CCGAAGGGGAAGGCCCTGTC
SEQ ID No. 887:	5'- GAAGGGGAAGGCCCTGTCTC
SEQ ID No. 888:	5'- GGCGCCGCCCTGTTCGAACG
SEQ ID No. 889:	5'- AGGCGCCGCCCTGTTCGAAC

5'- AAGGCGCCCCCTGTTCGAA SEQ ID No. 890: 5'- CCCGGCAACAGAGTTTTACG SEQ ID No. 891: 5'- CCCCGGCAACAGAGTTTTAC SEQ ID No. 892: 5'- CCATCTGTAAGTGGCAGCCG SEQ ID No. 893: 5'- TCTGTAAGTGGCAGCCGAAG SEQ ID No. 894: 5'- CTGTAAGTGGCAGCCGAAGC SEQ ID No. 895: 5'- CCCATCTGTAAGTGGCAGCC SEQ ID No. 896: 5'- TGTAAGTGGCAGCCGAAGCC SEQ ID No. 897: 5'- CATCTGTAAGTGGCAGCCGA SEQ ID No. 898: 5'- ATCTGTAAGTGGCAGCCGAA SEQ ID No. 899: 5'- CAGCCGAAGCCGCCTTTCCT SEQ ID No. 900: 5'- GGCAACAGAGTTTTACGACC SEQ ID No. 901: 5'- CCGGCAACAGAGTTTTACGA SEQ ID No. 902: 5'- TTCCCCGGCAACAGAGTTTT SEQ ID No. 903: 5'- CTTCCCCGGCAACAGAGTTT SEQ ID No. 904: 5'- TCCCCGGCAACAGAGTTTTA SEQ ID No. 905: 5'- CCGTCCGCCGCTAACCTTTT SEQ ID No. 906: 5'- CTTCCTCCGACTTACGCCGG SEQ ID No. 907: 5'- CCTCCGACTTACGCCGGCAG SEQ ID No. 908: 5'- TTCCTCCGACTTACGCCGGC SEQ ID No. 909: 5'- TCCTCCGACTTACGCCGGCA SEQ ID No. 910: 5'- TCCGACTTACGCCGGCAGTC SEQ ID No. 911: 5'- CCGACTTACGCCGGCAGTCA SEQ ID No. 912: 5'- GCCTTCCTCCGACTTACGCC SEQ ID No. 913: 5'- CCTTCCTCCGACTTACGCCG SEQ ID No. 914: 5'- GCTCTCCCCGAGCAACAGAG SEQ ID No. 915: 5'- CTCTCCCCGAGCAACAGAGC SEQ ID No. 916: 5'- CGCTCTCCCCGAGCAACAGA SEQ ID No. 917:

5'- CTCCGACTTACGCCGGCAGT SEQ ID No. 918: 5'- TCTCCCCGAGCAACAGAGCT SEQ ID No. 919: 5'- CGACTTACGCCGGCAGTCAC SEQ ID No. 920: 5'- TCGGCACTGGGGTGTGTCCC SEQ ID No. 921: 5'- GGCACTGGGGTGTGTCCCCC SEQ ID No. 922: 5'- CTGGGGTGTGTCCCCCAAC SEQ ID No. 923: 5'- CACTGGGGTGTGTCCCCCCA SEQ ID No. 924: 5'- ACTGGGGTGTGTCCCCCAA SEQ ID No. 925: 5'- GCACTGGGGTGTGTCCCCCC SEQ ID No. 926: 5'- TGGGGTGTGTCCCCCCAACA SEQ ID No. 927: 5'- CACTCCAGACTTGCTCGACC SEQ ID No. 928: 5'- TCACTCCAGACTTGCTCGAC SEQ ID No. 929: 5'- CGGCACTGGGGTGTGTCCCC SEQ ID No. 930: 5'- CGCCTTCCTCCGACTTACGC SEQ ID No. 931: 5'- CTCCCCGAGCAACAGAGCTT SEQ ID No. 932: 5'- ACTCCAGACTTGCTCGACCG SEQ ID No. 933: 5'- CCCATGCCGCTCTCCCCGAG SEQ ID No. 934: 5'- CCATGCCGCTCTCCCCGAGC SEQ ID No. 935: 5'- CCCCATGCCGCTCTCCCCGA SEQ ID No. 936: 5'- TCACTCGGTACCGTCTCGCA SEQ ID No. 937: 5'- CATGCCGCTCTCCCCGAGCA SEQ ID No. 938: 5'- ATGCCGCTCTCCCCGAGCAA SEQ ID No. 939: 5'- TTCGGCACTGGGGTGTGTCC SEQ ID No. 940: 5'- TGCCGCTCTCCCCGAGCAAC SEQ ID No. 941: 5'- TTCACTCCAGACTTGCTCGA SEQ ID No. 942: 5'- CCCGCAAGAAGATGCCTCCT SEQ ID No. 943: 5'- AGAAGATGCCTCCTCGCGGG SEQ ID No. 944: 5'- AAGAAGATGCCTCCTCGCGG SEQ ID No. 945:

SEQ ID No. 946:	5'- CGCAAGAAGATGCCTCCTCG
SEQ ID No. 947:	5'- AAGATGCCTCCTCGCGGGCG
SEQ ID No. 948:	5'- CCGCAAGAAGATGCCTCCTC
SEQ ID No. 949:	5'- GAAGATGCCTCCTCGCGGGC
SEQ ID No. 950:	5'- CCCCGCAAGAAGATGCCTCC
SEQ ID No. 951:	5'- CAAGAAGATGCCTCCTCGCG
SEQ ID No. 952:	5'- TCCTTCGGCACTGGGGTGTG
SEQ ID No. 953:	5'- CCGCTCTCCCCGAGCAACAG
SEQ ID No. 954:	5'- TGCCTCCTCGCGGGCGTATC
SEQ ID No. 955:	5'- GACTTACGCCGGCAGTCACC
SEQ ID No. 956:	5'- GGCTCCTCTCTCAGCGGCCC
SEQ ID No. 957:	5'- CCTTCGGCACTGGGGTGTGT
SEQ ID No. 958:	5'- GGGGTGTGTCCCCCCAACAC
SEQ ID No. 959:	5'- GCCGCTCTCCCCGAGCAACA
SEQ ID No. 960:	5'- AGATGCCTCCTCGCGGGCGT
SEQ ID No. 961:	5'- CACTCGGTACCGTCTCGCAT
SEQ ID No. 962:	5'- CTCACTCGGTACCGTCTCGC
SEQ ID No. 963:	5'- GCAAGAAGATGCCTCCTCGC
SEQ ID No. 964:	5'- CTCCAGACTTGCTCGACCGC
SEQ ID No. 965:	5'- TTACGCCGGCAGTCACCTGT
SEQ ID No. 966:	5'- CTTCGGCACTGGGGTGTGTC
SEQ ID No. 967:	5'- CTCGCGGGCGTATCCGGCAT
SEQ ID No. 968:	5'- GCCTCCTCGCGGGCGTATCC
SEQ ID No. 969:	5'- ACTCGGTACCGTCTCGCATG
SEQ ID No. 970:	5'- GATGCCTCCTCGCGGGCGTA
SEQ ID No. 971:	5'- GGGTGTGTCCCCCCAACACC
SEQ ID No. 972:	5'- ACTTACGCCGGCAGTCACCT
SEQ ID No. 973:	5'- CTTACGCCGGCAGTCACCTG

5'- ATGCCTCCTCGCGGGCGTAT
5'- GCGCCGCGGGCTCCTCTC
5'- GGTGTGTCCCCCCAACACCT
5'- GTGTGTCCCCCCAACACCTA
5'- CCTCGCGGGCGTATCCGGCA
5'- CCTCACTCGGTACCGTCTCG
5'- TCCTCACTCGGTACCGTCTC
5'- TCGCGGGCGTATCCGGCATT
5'- TTTCACTCCAGACTTGCTCG
5'- TACGCCGGCAGTCACCTGTG
5'- TCCAGACTTGCTCGACCGCC
5'- CTCGGTACCGTCTCGCATGG
5'- CGCGGGCGTATCCGGCATTA
5'- GCGTATCCGGCATTAGCGCC
5'- GGGCTCCTCTCTCAGCGGCC
5'- TCCCCGAGCAACAGAGCTTT
5'- CCCCGAGCAACAGAGCTTTA
5'- CCGAGCAACAGAGCTTTACA
5'- CCATCCCATGGTTGAGCCAT
5'- GTGTCCCCCCAACACCTAGC
5'- GCGGCGTATCCGGCATTAG
5'- CGAGCGGCTTTTTGGGTTTC
5'- CTTTCACTCCAGACTTGCTC
5'- TTCCTTCGGCACTGGGGTGT
5'- CCGCCTTCCTCCGACTTACG
5'- CCCGCCTTCCTCCGACTTAC
5'- CCTCCTCGCGGGCGTATCCG
5'- TCCTCGCGGGCGTATCCGGC

5'- CATTAGCGCCCGTTTCCGGG SEQ ID No. 1002: 5'- GCATTAGCGCCCGTTTCCGG SEQ ID No. 1003: 5'- GGCATTAGCGCCCGTTTCCG SEQ ID No. 1004: 5'- GTCTCGCATGGGGCTTTCCA SEQ ID No. 1005: 5'- GCCATGGACTTTCACTCCAG SEQ ID No. 1006: 5'- CATGGACTTTCACTCCAGAC SEQ ID No. 1007: 5'- ACCGTCTCACAAGGAGCTTT SEQ ID No. 1011: 5'- TACCGTCTCACAAGGAGCTT SEQ ID No. 1012: 5'- GTACCGTCTCACAAGGAGCT SEQ ID No. 1013: 5'- GCCTACCCGTGTATTATCCG SEQ ID No. 1014: 5'- CCGTCTCACAAGGAGCTTTC SEQ ID No. 1015: 5'- CTACCCGTGTATTATCCGGC SEQ ID No. 1016: 5'- GGTACCGTCTCACAAGGAGC SEQ ID No. 1017: 5'- CGTCTCACAAGGAGCTTTCC SEQ ID No. 1018: 5'- TCTCACAAGGAGCTTTCCAC SEQ ID No. 1019: 5'- TACCCGTGTATTATCCGGCA SEQ ID No. 1020: 5'- GTCTCACAAGGAGCTTTCCA SEQ ID No. 1021: 5'- ACCCGTGTATTATCCGGCAT SEQ ID No. 1022: 5'- CTCGGTACCGTCTCACAAGG SEQ ID No. 1023: 5'- CGGTACCGTCTCACAAGGAG SEQ ID No. 1024: 5'- ACTCGGTACCGTCTCACAAG SEQ ID No. 1025: 5'- CGGCTGGCTCCATAACGGTT SEQ ID No. 1026: 5'- ACAAGTAGATGCCTACCCGT SEQ ID No. 1027: 5'- TGGCTCCATAACGGTTACCT SEQ ID No. 1028: 5'- CAAGTAGATGCCTACCCGTG SEO ID No. 1029: 5'- CACAAGTAGATGCCTACCCG SEQ ID No. 1030: 5'- GGCTCCATAACGGTTACCTC SEQ ID No. 1031: 5'- ACACAAGTAGATGCCTACCC SEQ ID No. 1032:

5'- CTGGCTCCATAACGGTTACC SEQ ID No. 1033: 5'- GCTGGCTCCATAACGGTTAC SEQ ID No. 1034: 5'- GGCTGGCTCCATAACGGTTA SEQ ID No. 1035: 5'- GCTCCATAACGGTTACCTCA SEQ ID No. 1036: 5'- AAGTAGATGCCTACCCGTGT SEQ ID No. 1037: 5'- CTCCATAACGGTTACCTCAC SEQ ID No. 1038: 5'- TGCCTACCCGTGTATTATCC SEQ ID No. 1039: 5'- TCGGTACCGTCTCACAAGGA SEQ ID No. 1040: SEQ ID No. 1041: 5'- CTCACAAGGAGCTTTCCACT 5'- GTAGATGCCTACCCGTGTAT SEQ ID No. 1042: 5'- CCTACCCGTGTATTATCCGG SEQ ID No. 1043: 5'- CACTCGGTACCGTCTCACAA SEQ ID No. 1044: 5'- CTCAGCGATGCAGTTGCATC SEQ ID No. 1045: 5'- AGTAGATGCCTACCCGTGTA SEQ ID No. 1046: 5'- GCGGCTGGCTCCATAACGGT SEQ ID No. 1047: 5'- CCAAAGCAATCCCAAGGTTG SEQ ID No. 1048: 5'- TCCATAACGGTTACCTCACC SEQ ID No. 1049: 5'- CCCGTGTATTATCCGGCATT SEQ ID No. 1050: 5'- TCTCAGCGATGCAGTTGCAT SEQ ID No. 1051: 5'- CCATAACGGTTACCTCACCG SEQ ID No. 1052: 5'- TCAGCGATGCAGTTGCATCT SEQ ID No. 1053: 5'- GGCGGCTGGCTCCATAACGG SEQ ID No. 1054: 5'- AAGCAATCCCAAGGTTGAGC SEQ ID No. 1055: 5'- TCACTCGGTACCGTCTCACA SEQ ID No. 1056: SEO ID No. 1057: 5'- CCGAGTGTTATTCCAGTCTG SEQ ID No. 1058: 5'- CACAAGGAGCTTTCCACTCT 5'- ACAAGGAGCTTTCCACTCTC SEQ ID No. 1059: 5'- TCACAAGGAGCTTTCCACTC SEQ ID No. 1060:

5'- CAGCGATGCAGTTGCATCTT SEQ ID No. 1061: 5'- CAAGGAGCTTTCCACTCTCC SEQ ID No. 1062: 5'- CCAGTCTGAAAGGCAGATTG SEQ ID No. 1063: 5'- CAGTCTGAAAGGCAGATTGC SEQ ID No. 1064: 5'- CGGCGGCTGGCTCCATAACG SEQ ID No. 1065: 5'- CCTCTCTCAGCGATGCAGTT SEQ ID No. 1066: 5'- CTCTCTCAGCGATGCAGTTG SEQ ID No. 1067: 5'- TCTCTCAGCGATGCAGTTGC SEQ ID No. 1068; 5'- CTCTCAGCGATGCAGTTGCA SEQ ID No. 1069: 5'- CAATCCCAAGGTTGAGCCTT SEQ ID No. 1070: 5'- AATCCCAAGGTTGAGCCTTG SEQ ID No. 1071: 5'- AGCAATCCCAAGGTTGAGCC SEQ ID No. 1072: 5'- CTCACTCGGTACCGTCTCAC SEQ ID No. 1073: 5'- GCAATCCCAAGGTTGAGCCT SEQ ID No. 1074: 5'- GCCTTGGACTTTCACTTCAG SEQ ID No. 1075: 5'- CATAACGGTTACCTCACCGA SEQ ID No. 1076: 5'- CTCCTCTCTCAGCGATGCAG SEQ ID No. 1077: 5'- TCGGCGGCTGGCTCCATAAC SEQ ID No. 1078: 5'- AGTCTGAAAGGCAGATTGCC SEQ ID No. 1079: 5'- TCCTCTCTCAGCGATGCAGT SEQ ID No. 1080: 5'- CCCAAGGTTGAGCCTTGGAC SEQ ID No. 1081: 5'- ATAACGGTTACCTCACCGAC SEQ ID No. 1082: 5'- TCCCAAGGTTGAGCCTTGGA SEQ ID No. 1083: 5'- ATTATCCGGCATTAGCACCC SEQ ID No. 1084: 5'- CTACGTGCTGGTAACACAGA SEO ID No. 1085: SEQ ID No. 1086: 5'- GCCGCTAGCCCCGAAGGGCT 5'- CTAGCCCCGAAGGGCTCGCT SEQ ID No. 1087: SEQ ID No. 1088: 5'- CGCTAGCCCCGAAGGGCTCG

5'- AGCCCCGAAGGGCTCGCTCG SEQ ID No. 1089: 5'- CCGCTAGCCCCGAAGGGCTC SEQ ID No. 1090: 5'- TAGCCCCGAAGGGCTCGCTC SEQ ID No. 1091: 5'- GCTAGCCCCGAAGGGCTCGC SEQ ID No. 1092: 5'- GCCCGAAGGGCTCGCTCGA SEQ ID No. 1093: 5'- ATCCCAAGGTTGAGCCTTGG SEQ ID No. 1094: 5'- GAGCCTTGGACTTTCACTTC SEQ ID No. 1095: 5'- CAAGGTTGAGCCTTGGACTT SEQ ID No. 1096: 5'- GAGCTTTCCACTCTCCTTGT SEQ ID No. 1097: 5'- CCAAGGTTGAGCCTTGGACT SEQ ID No. 1098: 5'- CGGGCTCCTCTCTCAGCGAT SEQ ID No. 1099: 5'- GGAGCTTTCCACTCTCCTTG SEQ ID No. 1100: 5'- GGGCTCCTCTCTCAGCGATG SEQ ID No. 1101: 5'- TCTCCTTGTCGCTCTCCCCG SEQ ID No. 1102: 5'- TCCTTGTCGCTCTCCCCGAG SEQ ID No. 1103: 5'- AGCTTTCCACTCTCCTTGTC SEQ ID No. 1104: 5'- CCACTCTCCTTGTCGCTCTC SEQ ID No. 1105: 5'- GGCTCCTCTCTCAGCGATGC SEQ ID No. 1106: 5'- CCTTGTCGCTCTCCCCGAGC SEQ ID No. 1107: 5'- CACTCTCCTTGTCGCTCTCC SEQ ID No. 1108: 5'- ACTCTCCTTGTCGCTCTCCC SEQ ID No. 1109: 5'- CTCTCCTTGTCGCTCTCCCC SEQ ID No. 1110: 5'- GCGGGCTCCTCTCAGCGA SEQ ID No. 1111: 5'- GGCTCCATCATGGTTACCTC SEQ ID No. 1112: SEO ID No. 1116: 5'- CTTCCTCCGGCTTGCGCCGG 5'- CGCTCTTCCCGA(G/T)TGACTGA SEQ ID No. 1117: 5'- CCTCGGGCTCCTCCATC(A/T)GC SEQ ID No. 1118:

- 2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Zygosaccharomyces bailii mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 1 bis SEQ ID No. 17, nachgewiesen wird.
- 3. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Zygosaccharomyces mellis mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 18 bis SEQ ID No. 68, nachgewiesen wird.
- 4. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Zygosaccharomyces rouxii mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 69 bis SEQ ID No. 119, nachgewiesen wird.
- 5. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Zygosaccharomyces bisporus mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 120 bis SEQ ID No. 134, nachgewiesen wird.
- 6. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Hanseniaspora uvarum mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 135 und SEQ ID No. 136, nachgewiesen wird.
- 7. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Candida intermedia mittels der Oligonukleotidsonde SEQ ID No. 137 nachgewiesen wird.
- 8. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Saccharomyces exiguus mittels der Oligonukleotidsonde SEQ ID No. 138 nachgewiesen wird.

- 9. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Saccharomycodes ludwigii mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 139 und SEQ ID No. 140, nachgewiesen wird.
- 10. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Mucor racemosus mittels der Oligonukleotidsonde SEQ ID No. 141 nachgewiesen wird.
- 11. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Byssochlamys nivea mittels der Oligonukleotidsonde SEQ ID No. 142 nachgewiesen wird.
- 12. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Neosartorya fischeri mittels der Oligonukleotidsonde SEQ ID No. 143 nachgewiesen wird.
- 13. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die getränkeschädlichen Mikroorganismen Aspergillus fumigatus und A. fischeri gleichzeitig mittels der Oligonukleotidsonde SEQ ID No. 144 nachgewiesen werden.
- 14. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Talaromyces flavus mittels der Oligonukleotidsonde SEQ ID No. 145 nachgewiesen wird.
- 15. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die getränkeschädlichen Mikroorganismen Talaromyces bacillisporus und T. flavus gleichzeitig mittels der Oligonukleotidsonde SEQ ID No. 146 nachgewiesen werden.
- 16. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Lactobacillus collinoides mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 147 bis SEQ ID No. 247, nachgewiesen wird.

- 17. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die getränkeschädlichen Mikroorganismen Leuconostoc mesenteroides und L. pseudomesenteroides gleichzeitig mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 248 bis SEQ ID No. 277, nachgewiesen werden.
- 18. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Leuconostoc pseudomesenteroides mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 278 bis SEQ ID No. 317, nachgewiesen wird.
- 19. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Oenococcus oenos mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 318 bis SEQ ID No. 418, nachgewiesen wird.
- 20. Verfahren nach Anspruch 1, wobei getränkeschädliche Mikroorganismen der Gattung Weissella mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 419 bis SEQ ID No. 469, nachgewiesen werden.
- 21. Verfahren nach Anspruch 1, wobei getränkeschädliche Mikroorganismen der Gattung Lactococcus mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 470 bis SEQ ID No. 520, nachgewiesen werden.
- 22. Verfahren nach Anspruch 1, wobei getränkeschädliche Mikroorganismen der Gattungen Acetobacter und Gluconobacter gleichzeitig mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 521 bis SEQ ID No. 582, nachgewiesen werden.
- 23. Verfahren nach Anspruch 1, wobei getränkeschädliche Mikroorganismen der Gattungen Acetobacter, Gluconobacter und Gluconoacetobacter gleichzeitig mittels



mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 583 bis SEQ ID No. 816, nachgewiesen werden.

- 24. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Bacillus coagulans mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 817 bis SEQ ID No. 906, nachgewiesen wird.
- 25. Verfahren nach Anspruch 1, wobei getränkeschädliche Mikroorganismen der Gattung Alicyclobacillus mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 907 bis SEQ ID No. 1007, nachgewiesen werden.
- 26. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der getränkeschädliche Mikroorganismus Alicyclobacillus acidoterrestris mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 1011 bis SEQ ID No. 1112, nachgewiesen wird.
- 27. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die getränkeschädlichen Mikroorganismen Alicyclobacillus cycloheptanicus und A. herbarius gleichzeitig mittels mindestens einer Oligonukleotidsonde, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 1116 bis SEQ ID No. 1118, nachgewiesen werden.
- 28. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass die mindestens eine Oligonukleotidsonde zusammen mit einer oder mehreren Kompetitorsonden verwendet wird.
- 29. Verfahren nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, dass die Oligonukleotidsonde SEQ ID No. 907 zusammen mit einer oder mehreren Kompetitorsonden, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 1008 bis SEQ ID No. 1010, verwendet wird.



- 30. Verfahren nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, dass die mindestens eine Oligonukleotidsonde zusammen mit einer oder mehreren Kompetitorsonden verwendet wird.
- 31. Verfahren nach Anspruch 30, dadurch gekennzeichnet, dass die Oligonukleotidsonde SEQ ID No. 1018 zusammen mit der Kompetitorsonde SEQ ID No. 1113 verwendet wird.



- 32. Verfahren nach Anspruch 30, dadurch gekennzeichnet, dass die Oligonukleotidsonde SEQ ID No. 1031 zusammen mit einer oder mehreren Kompetitorsonden, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID No. 1114 und SEQ ID No. 1115, verwendet wird.
- 33. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 32, dadurch gekennzeichnet, dass es die folgenden Schritte umfasst:
- a) Kultivieren der in der Probe enthaltenen getränkeschädlichen Mikroorganismen,
- b) Fixieren der in der Probe enthaltenen getränkeschädlichen Mikroorganismen,
- c) Inkubieren der fixierten Mikroorganismen mit mindestens einer Oligonukleotidsonde, ggf. zusammen mit einer Kompetitorsonde,



- d) Entfernen nicht hybridisierter Oligonukleotidsonden,
- e) Detektieren und Visualisieren sowie ggf. Quantifizieren der getränkeschädlichen Mikroorganismen mit den hybridisierten Oligonukleotidsonden.
- 34. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 33, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei der Probe um eine Probe aus alkoholfreien Getränken handelt.
- 35. Kit zur Durchführung eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 34, enthaltend mindestens ein Oligonukleotid nach Anspruch 1.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum spezifischen Schnellnachweis getränkeschädlicher Mikroorganismen durch in situ-Hybridisierung. Weiter betrifft die Erfindung spezifische Oligonukleotidsonden, die im Rahmen des Nachweisverfahrens eingesetzt werden sowie Kits, die diese Oligonukleotidsonden enthalten.





Document made available under the **Patent Cooperation Treaty (PCT)**

International application number: PCT/EP04/010695

International filing date:

23 September 2004 (23.09.2004)

Document type:

Certified copy of priority document

Document details:

Country/Office: DE

Number:

103 44 057.7

Filing date: 23 September 2003 (23.09.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 04 February 2005 (04.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in

compliance with Rule 17.1(a) or (b)

